

Diplomarbeit

Nachweis modifizierter Proteine bei Schwangerschaftspathologien in mütterlichem und fetalem Serum

Eingereicht von

Jennifer Etheridge
13.11.1988

Zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor(in) der gesamten Heilkunde
(Dr.med.univ.)

An der

Medizinischen Universität Graz

Ausgeführt an der

Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

Unter der Anleitung von

Ass.-Prof. Priv.-Doz. Mag. Dr. rer. nat. Christian Wadsack

Und der Zweitbetreuung von

Ao.Univ.-Prof. Dr.phil. Gernot Desoye

Graz, 14.01.2014

Jennifer Etheridge

Inhalt

Eidesstattliche Erklärung	4
Danksagung	5
Zusammenfassung	6
Abstract	8
1 Einleitung	10
1.1 Die menschliche Plazenta	10
1.1.1 Allgemeines	10
1.1.2 Entstehung und Entwicklung.....	10
1.1.3 Aufbau	11
1.1.4 Plazentaschranke	12
1.1.5 Funktion.....	12
1.1.6 Die Plazenta nach der Geburt	13
1.2 Der mütterliche Körper in der Schwangerschaft	14
1.3 Der fetale Kreislauf	15
1.4 Lipide und Lipoproteine in der Schwangerschaft.....	16
1.4.1 Veränderungen im Stoffwechsel der Mutter	16
1.4.2 Veränderungen im Stoffwechsel auf der fetalen Seite.....	17
1.5 Gestationsdiabetes	18
1.5.1 Definition, Klassifikation und Epidemiologie	18
1.5.2 Symptome, Risiken und Folgen.....	20
1.5.3 Behandlung und Prognose.....	22
1.6 Modifizierte (Lipo-)Proteine	24
1.6.1 Proteinmodifikationen.....	25
1.6.2 Lipidperoxidation.....	26
1.6.3 Pathophysiologie der modifizierten Lipoproteine	27
2 Material und Methoden.....	29
2.1 Charakterisierung der untersuchten Kohorte.....	29
2.2 Klinische Parameter der Patientinnen	30
2.3 Serum/Plasmaproben.....	36
2.4 Labormaterialien.....	37
2.4.1 Proteinbestimmung (nach Bradford).....	37
2.4.2 OxiSelect™ Protein Carbonyl ELISA Kit	37
2.4.3 Cholesterinbestimmung nach der CHOD-PAP-Methode	39
2.4.4 Scan Drop Photometer	40

2.4.5 OxiSelect™ MDA Adduct ELISA Kit.....	41
2.4.6 LabAssay™ Triglyceride (GPO•DAOS method)	42
3 Hypothese und Fragestellung	43
4 Ergebnisse.....	44
4.1 Systematischer Vergleich der Kohorte	44
4.1.1 Klinische Daten	44
4.1.2 Protein- und Lipidparameter der Kohorte.....	45
4.2 Protein Carbonyl ELISA	47
4.3 Malondialdehyd ELISA.....	50
4.4 Korrelationen.....	53
4.4.1 Protein Carbonyl ELISA.....	53
4.4.2 MDA ELISA.....	57
5 Diskussion	61
6 Quellenverzeichnis	64
7 Tabellenverzeichnis	70
8 Abbildungsverzeichnis	71
9 Appendix	73
9.1 Abkürzungen.....	73
9.2 Lebenslauf.....	75

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, 14.01.2014

Jennifer Etheridge

Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Betreuer Assoz.-Prof. Priv.-Doz. Mag. Dr. rer. nat. Christian Wadsack, der all die Zeit über so viel Geduld mit mir hatte und mir stets eine kompetente und freundliche Hilfe war.

Mein weiterer Dank gilt meinem Zweitbetreuer Ao.Univ.-Prof. Dr.phil. Gernot Desoye für seine Unterstützung.

Ganz herzlich möchte ich mich auch beim Laborteam bedanken. Durch all die netten Leute wurde die Arbeit im Labor zu etwas Besonderem. Hervorheben möchte ich Frau Susanne Kopp, die mir bei all meinen Unternehmungen an den Zentrifugen, Reagenzgläsern und sonstigen Utensilien stets zur Seite stand.

Auch noch danken möchte ich meinem Freund Jürgen Rebernig für jegliche Art der Hilfe bei der Arbeit, dem Korrekturlesen und für das Auffrischen meiner Motivation, wenn es mal nicht so leicht ging.

Zu guter Letzt möchte ich noch meiner Familie danken, die mir das Studium und all dies erst ermöglicht hat.

Abschließend noch einmal ein großes Dankeschön an Alle, die mir geholfen und mich unterstützt haben und seien sie hier auch nicht namentlich erwähnt, so haben sie doch entscheidend zu meinem Vorankommen beigetragen.

Vielen Dank!

Zusammenfassung

Einleitung:

Gestationsdiabetes (GDM), stellt eine in der Schwangerschaft erstmals erkannte Glukosetoleranzstörung dar, die sich jedoch meist nach Ende der Schwangerschaft zurückbildet. Die betroffenen Frauen haben meist wenige eher unspezifische bis keine Symptome, weshalb der Diabetes häufig erst bei der pflichtmäßigen Untersuchung in der 24.-28.Schwangerschaftswoche auffällt. Dieser wird mit der sogenannten White Klassifikation in seine Schweregrade eingeteilt, was für die Therapie ausschlaggebend ist.

An der Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe in Graz wird nach den ÖDG-Leitlinien der Glukosespiegel der Schwangeren zwischen der 24. bis 28. Schwangerschaftswoche kontrolliert, um einen möglichen Gestationsdiabetes früh zu erkennen und richtig behandeln zu können. Dies ist wichtig, da GDM mit hoher Morbidität und Mortalität sowohl mütterlich als auch fetal assoziiert wird. Da Diabetes auch genauso schwerwiegende Spätfolgen hat, wird nach einem Weg gesucht, die Erkrankung möglichst früh zu erkennen und auch einen Laborwert zu finden, der etwas über die Schwere und die Auswirkung aussagt. Und so wurde die Hypothese aufgestellt, dass modifizierte Proteine wie Carbonyle und Malondialdehyd (MDA) als Marker hierfür in Frage kommen.

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde die Vermutung aufgestellt, dass es einen positiven Zusammenhang zwischen der Konzentration an modifizierten Proteinen im Plasma der Mutter und/oder des Kindes und der Erkrankung gibt. Das würde bedeuten, dass die an GDM erkrankten Mütter höhere Werte haben müssten als ihre Kinder und als die gesunde Vergleichsgruppe. Es wurde versucht, dies im Rahmen dieser Studie zu zeigen.

Methoden:

Von der untersuchten Kohorte wurden während der Schwangerschaft klinische Daten erhoben und schließlich kurz nach der Geburt venöses Blut gewonnen. Zu den korrespondierenden Müttern wurde auch fetales Nabelschnurblut aus der Plazenta gewonnen. Das aus Mutter und Kind isolierte Plasma diente als Probenmaterial für weitere Untersuchungen. Durch definierte Einschlusskriterien ergaben sich zwei Gruppen, eine Gruppe mit GDM Erkrankten im Stadium White A, A0 und AB und eine Kontrollgruppe mit gesunden Schwangeren. Es wurden Gesamtprotein, Triglyceride und das Gesamtcholesterin aller Proben bestimmt, um das Lipidprofil auf mögliche Risikofaktoren zu untersuchen. Modifizierte Proteine (Carbonyle) und Lipide (MDA) wurden mittels ELISA in mütterlichem und fetalem Plasma bestimmt. Die Konzentration an modifizierten Proteinen wurde mit den klinischen Parametern in Zusammenhang gebracht um daraus Zusammenhänge und etwaige Voraussagen zu erkennen. Die Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz hatte ihre Zustimmung zur Durchführung der Studie gegeben.

Ergebnisse und Schlussfolgerung:

Die Arbeitshypothese, dass eine erhöhte Konzentration an modifizierten Proteinen, als Marker für oxidativen Stress, auf Grund des Krankheitsbildes bei Schwangeren mit Diabetes im Vergleich zur Kontrollgruppe zu messen ist, konnte nicht verifiziert werden. Aufgrund der Plazentaschranke wurde im Vergleich zur mütterlichen Zirkulation eine erniedrigte Konzentration an oxidativen Stressmarkern bei den Neugeborenen erwartet.

Entgegen der Hypothese hat sich jedoch herausgestellt, dass die Neugeborenen der Kontrollgruppe die höchsten Konzentrationen an modifizierten Proteinen aufwiesen, gefolgt von ihren Müttern. Bemerkenswert ist, dass offensichtlich in der untersuchten Schwangerschaftspathologie bei der Mutter die oxidativen Stressmarker nicht erhöht sind, hingegen nur das Neugeborene der GDM-Gruppe erhöhte Konzentrationen aufwies.

Dies lässt den Schluss zu, dass eine gestörte Glukosetoleranz in der Schwangerschaft alleine nicht diese Ergebnisse erklären, und weitere noch nicht bekannte Mechanismen für die Erhöhung der modifizierten Proteinspiegel im fetalen Blut ebenso wie im Blut der Schwangeren verantwortlich ist. Weitere Forschungen könnten an dieser Vermutung ansetzen, um das zu verifizieren.

Abstract

Introduction:

GDM, gestational diabetes mellitus is a glucose tolerance disorder which is discovered during pregnancy without previously diagnosed diabetes. In most cases, the ailment disappears after giving birth. The affected women generally show few, unspecific symptoms or even none. Because of this, GDM is in most cases diagnosed only during mandatory screenings in weeks of pregnancy 24 to 28. The so called white classification is used to differentiate between certain degrees of this disease. This helps in choosing the adequate therapies.

At the “Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe in Graz” (university hospital of gynaecology and obstetrics) the glucose levels are controlled according to the official guidelines set by ÖDG. This includes controls during 24th to 28th week of pregnancy, as to diagnose potential gestational diabetes as soon as possible as well as to start best possible treatment. Moreover this is important because GDM is associated with high morbidity and mortality in both foetus and mothers. Diabetes has many long term consequences as well, so finding a way to gain knowledge of the disease, the degree and impact as quickly as possible is of the essence. In this regard the use of modified proteins such as carbonyls or MDA as markers has been discussed.

In the course of this Diploma thesis we made the assumption that there is a positive correlation between the blood level of the mentioned modified proteins in plasma of mother and/or child as well as with the disease itself. In other words, mothers with diagnosed GDM should exhibit higher levels than their children as well as mothers (and children) in the control group. The intention of this thesis was to verify this.

Methods:

Some clinical data of the examined cohort had already been collected during pregnancy, and shortly after giving birth venous blood had been obtained. Analogous to the corresponding mothers foetal cord blood of the placenta had been gained as well. The isolated plasma of mother and child was used as sample material. Using defined inclusion criteria we were able to differentiate two main groups, those pregnant women with diagnosed GDM (White Stadium A, A0 and AB) and a control group with healthy pregnant women. Total protein, triglyceride and total cholesterol levels of all samples were tested to examine the lipid-profile for possible risk factors. Modified proteins, (Carbonyls) and lipids (MDA) were tested using ELISA assays to identify their levels in maternal and foetal plasma. The concentration of modified proteins was linked to clinical parameters to discern causal relations as well as eventual prognosis. The ethics commission was informed and has given their approval to the realization of this study.

Results:

The working hypothesis, that an increased level of modified protein in consequence of the disease pattern of diabetes could be measured as a marker for oxidative stress in comparison to the control group, could not be verified.

Contrary to the hypothesis, it was shown that the newborn of the control group displayed the highest concentrations of modified proteins, followed by their mothers. It is remarkable however, that apparently the oxidative stress markers in the examined gestational pathology of the mothers are not elevated, and only the newborn of the GDM- group show an increased concentration.

This suggests that an abnormal glucose tolerance during pregnancy is not the only reason for these results, and other as of yet not described mechanisms are responsible for the increase of modified proteins in foetal blood as well as in the motherly one. More detailed research should be conducted regarding this matter, to verify the conclusions.

1 Einleitung

1.1 Die menschliche Plazenta

1.1.1 Allgemeines

Die Plazenta, auch Nachgeburt oder Mutterkuchen genannt (1), dient dem An- und Abtransport von verschiedenen Stoffen über das mütterliche Blut in den fetalen Kreislauf (3). Die menschliche Plazenta ist ein scheibenförmiges Organ mit 15-20cm Durchmesser, 2-4cm Dicke und ungefähr 500g Gewicht. Im Normalfall befindet sie sich sehr hoch im Corpus Uteri an der Vorder- oder Rückwand (1). Bei bestimmten Erkrankungen kann sie auch größer sein oder eine andere Form haben (z.B: Plazenta Accessoria, Plazenta Mebranacea) (4). Bei einigen Tieren kann sie auch andere Formen annehmen, aber die Funktion bleibt die Gleiche. Nach der Geburt des Kindes wird sie als Nachgeburt mitsamt den Eihäuten und der Nabelschnur ausgestoßen (2).

1.1.2 Entstehung und Entwicklung

Zu Beginn der Schwangerschaft besteht noch keine Verbindung zwischen dem Uterus und dem beginnenden Zellhaufen (1). Im Laufe der weiteren Tage beginnt der zukünftige Embryo Trophoblastenlakunen zu bilden, welche dann um den zwölften Entwicklungstag herum beginnen, mit dem mütterlichen Blut Kontakt aufzunehmen. Anfangs handelt es sich nur um blutgefüllte Sinusoide, welche sich später zum intervillösen Raum weiterentwickeln. In diesem Raum fließt mütterliches Blut frei herum und von der fetalen Seite aus sprossen Zotten ein, die in weiterer Folge die Kapillaren des fetalen Kreislaufs enthalten (5,6,7). Hier findet der Austausch von Stoffen zwischen Mutter und Kind statt, aber das Blut der beiden kommt nie direkt in Kontakt, auf Grund des Schutzmechanismus der Plazentaschranke (5,8). Am Anfang beginnen die Zotten rund um den Embryo zu wachsen, wenn er dann an Größe gewinnt verschwinden sie am abembryonalen Pol wieder. Zurück bleibt die scheibenförmige Plazenta, die den Embryo versorgt (8).

1.1.3 Aufbau

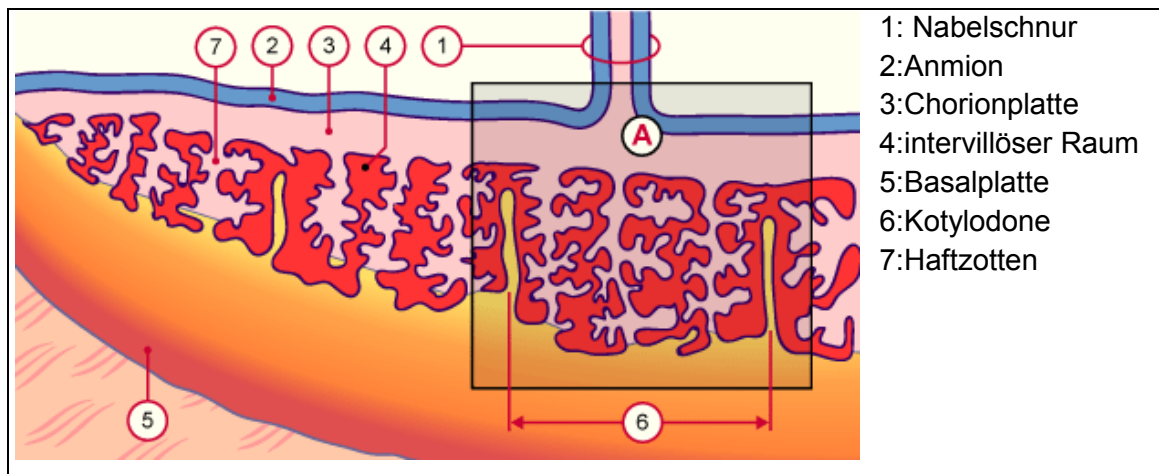


Abb.1: Schematische Darstellung einer Plazenta (9)

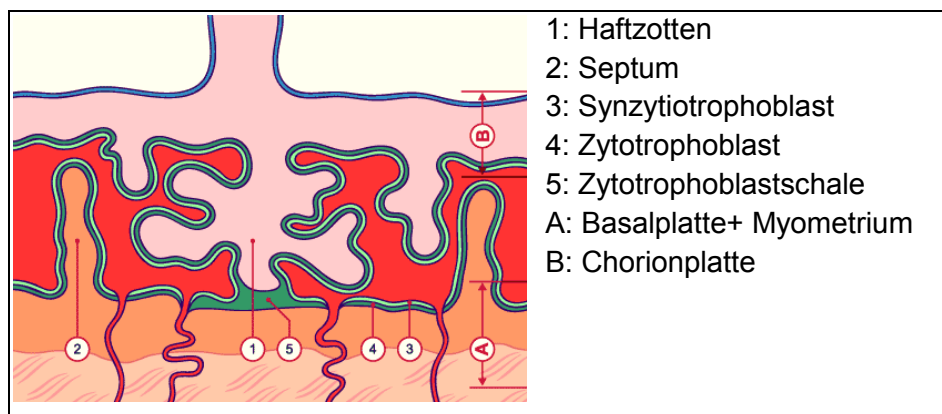


Abb.2: Bildausschnitt A im Detail (9)

Die Plazenta besteht aus einem kindlichen (Pars fetalis) und einem mütterlichen Teil (Pars materna oder Pars uterina). Die Pars fetalis ist nach außen mit dem Amnionepithel überzogen. Darunter liegt die Chorionplatte, aus der die Zotten mit den fetalen Blutgefäßen in den intervillösen Raum hinein wachsen, der von mütterlichem Blut durchflossen wird. Danach folgen die Dezidua und die Basalplatte, die wiederum an das Myometrium grenzen. Auf der fetalen Seite tritt die Nabelschnur aus. Sie beinhaltet eine Vene und zwei Arterien. Am wichtigsten für die Plazentafunktion sind die oben genannten Zotten. Sie sind unterteilt in einzelne Zottenbäume, die wiederum als Kotyledone bezeichnet werden und auf der mütterlichen Seite der Plazenta als gleichmäßige Felder erkennbar sind. Getrennt werden diese Bäume durch Septen, was zu deren typisch gelappten Aussehen führt. Im Laufe der Schwangerschaft verändern sich die Zotten und ihr Aufbau zugunsten der fetalen Versorgung (6,10).

1.1.4 Plazentaschranke

Die Plazenta stellt eine „Grenzschicht“ zwischen mütterlichem und fetalem Kreislauf dar. Der Stoffaustausch von Nährstoffen für das Kind wird erleichtert und Schadstoffe sollen nach Möglichkeit nicht in den fötalen Kreislauf übertreten. Schädliche Substanzen (Abbauprodukte, eingedrungene Erreger) können aus dem fötalen Blut ausgefiltert werden. Auch IgG kann in die fötale Seite eindringen, was in den ersten Lebenswochen auf Grund noch nicht gebildeter eigener Antikörper dem Fötus Infektions-Schutz bietet (7,8). Es besteht jedoch auch das Risiko der Sensibilisierung bei Rhesus- Mutter und Rhesus+ Kind, was bei weiteren Schwangerschaften zu Rhesusinkompatibilität führen kann (12).

1.1.5 Funktion

In erster Linie übernimmt die Plazenta Funktionen, die nach der Geburt von anderen Organen übernommen werden z.B.: Lunge, Niere, Darm, Leber und Haut. Sie produziert auch Hormone um die Schwangerschaft zu erhalten (13) und sie bildet eine Barriere, die das Kind schützen soll (11). Die wohl wichtigste Funktion der Plazenta ist die Sauerstoff- und Nährstoffversorgung. Dazu ist eine ausreichende Durchblutung notwendig. Die mütterliche Plazentadurchblutung beträgt etwa 1ml/min pro g Gewebe. Das entspricht am Geburtstermin etwa 500ml/min. Die Spiralarterien haben nicht die Fähigkeit zur Autoregulation, das heißt dass die Gefäße maximal dilatiert sind und bei Hypoxie nicht reagieren können. Eine Minderdurchblutung der Plazenta durch Blutdruckabfall, Uteruskontraktionen oder eine Kompression der Nabelschnur kann zu einem lebensbedrohlichen Zustand für den Fetus führen. Die fetalen Gefäße sind nicht innerviert und können nur über Hormone (Adrenalin, Prostaglandine) beeinflusst werden (11,12).

Beim Stoffaustausch kann man folgende Mechanismen unterscheiden: (11)

- Einfache Diffusion
- Carrier vermittelter passiver Transport
- Carrier vermittelter aktiver Transport
- Endozytose (Pinozytose)
- Diapedese

Ad einfache Diffusion: Diffusionsprozesse verlaufen immer in Richtung von Konzentrations- bzw. Druckgradienten. Für die hier betrachtete Abfolge in der Plazenta-schranke sind für den Diffusionstransport von vor Allem O₂ und CO₂ folgende Größen entscheidend: die jeweils vorhandene Konzentration, die Ausdehnung der Grenzfläche (Übergangs/Austauschfläche) sowie der Diffusionsweg(Längenfaktor). Interessant ist hierbei auch, dass trotz der geringeren pO₂ in der Nabelschnur der Transport dennoch erfolgt. Dies lässt sich durch den

höheren Hämoglobin-Gehalt im Fetus sowie einer höheren O₂ Affinität des fetalen Hämoglobins erklären. Alle fettlöslichen Stoffe können die Plazentamembran über diese einfachen Diffusionsprozesse überwinden.

Ad durch Carrier vermittelter passiver Transport: Grundsätzlich handelt es sich hierbei ebenso um Diffusionsprozesse, die jedoch durch stoffspezifische, passive Transporter erleichtert oder beschleunigt werden. Beispiele hierfür wären der Glucose Transport im Feten durch nicht-insulinabhängige GLUT1- Uniport Carrier durch die Plazenta, sowie der Abtransport von Lactat in die mütterliche Seite zur Verhinderung einer Laktatazidose im Fetus.

Ad Carrier vermittelter aktiver Transport: Er erfolgt meist über ATP-abhängige Kanäle, dem Gradienten entgegengerichtet. Na⁺ Symportcarrier der Synzytiummembran auf mütterlicher Seite sind beispielsweise am Aminosäuretransport beteiligt. Auch der Transport von einigen Vitaminen, unter anderem Vitamin B sowie Ca²⁺ Ionen fallen unter diese Kategorie.

Endozytose: Hierbei handelt es sich um eine Sonderform des aktiven Transportes, der in diesem Fall über Rezeptorvermittlung abläuft. Eisen und Protein wie auch Immunglobuline und Glykoproteine können so selektiv ins fetale Blut eingeschleust werden.

Diapedese: Ist der Übertritt zellulärer Bestandteile durch die Gefäßwände. Dies kommt am häufigsten bei Infektionen wie z.B.: mit Viren (Röteln) und Bakterien (Syphilis) vor.

Eine weitere wichtige Funktion ist die der Plazenta als Hormondrüse. Um die Schwangerschaft erhalten zu können, werden verschiedene Hormone produziert. Manche davon können auch im mütterlichen Blut nachgewiesen werden, da sie in selbiges übertreten. Wichtige plazentasynthetisierte Hormone sind HCG (humanes Choriongonadotropin), Östrogen, Progesteron sowie HPL (humanes Placentalaktogen). HPL dient der Steuerung der Glucose-Konzentration im mütterlichen Blut, um eine Versorgung des Fötus zu gewährleisten. HCG stimuliert den Gelbkörper Progesteron und Östrogen auszuschütten und zu bilden, zum Erhalt der Schwangerschaft in den ersten 3 Monaten (1.Trimenon) (13).

1.1.6 Die Plazenta nach der Geburt

Nach der Geburt hat die Plazenta keine weiteren Funktionen mehr, und wird deshalb als Nachgeburt ausgestoßen (1,4). Bei vielen Tieren, auch den reinen Vegetariern wird sie vom Weibchen gefressen, um etwaige Jäger am Aufnehmen der Duftspur zu hindern und um die verlorenen Vitamine wieder aufzunehmen, die im Rahmen der Geburt aufgebraucht wurden. Beim Menschen ist die Plazenta ein Abfallprodukt, aber es gibt immer wieder Frauen, die darauf bestehen ihre Plazenta selbst zu verwerten, eventuell um sie zu verzehren. Der Nachgeburt wird historisch übermittelt eine gewisse heilende Kraft zugeschrieben.

1.2 Der mütterliche Körper in der Schwangerschaft

Im Rahmen der Schwangerschaft kommt es im weiblichen Körper zu unzähligen Veränderungen. Der Körper der Schwangeren passt sich den neuen Umständen an, wodurch erst eine Entwicklung des Embryos möglich wird. Der gesamte Organismus stellt sich um, angefangen beim Hormonsystem, welches nebenbei auch noch die Steuerung der Schwangerschaft übernimmt und die Kommunikation zwischen Mutter und Ungeborenem ermöglicht. Das Herz-Kreislaufsystem reagiert mit vermehrter Durchblutung der Plazentaregion und einer Senkung des peripheren Widerstandes, wodurch zu Beginn der Schwangerschaft der Blutdruck meist niedrig ist, was aber nur vorübergehend ist und sich noch während der Schwangerschaft wieder normalisiert. Das Flüssigkeitsvolumen im Körper nimmt um ca. 8 Liter zu, wobei rund 1 Liter auf zusätzliches Blut entfällt, um den Embryo zu versorgen. Durch die Steigerung des Gefäßfassungsvermögens muss auch das Herz mehr Arbeit leisten und vergrößert sich daher in geringem Ausmaß. Die Lunge wird meist im Laufe der Schwangerschaft durch die wachsende Frucht zusammengedrückt, was bei den meisten Frauen besonders in der Spätschwangerschaft zu Atemnot führt. Die weibliche Brust und die Gebärmutter beginnen zu wachsen. Die Muskelschicht des Uterus wächst um ein zwanzigfaches an und die Zellen stellen sich auf die Kontraktion ein, die sie bei den Wehen leisten müssen. Das Brustdrüsengewebe beginnt zu wachsen und wird nur durch Hormone am frühzeitigen Laktieren gehindert. Die Haut kann an bestimmten Stellen hyperpigmentiert werden, was sich allerdings nach der Geburt zurückbildet. Aufgrund des Wachstums des Kindes kommt es auch zur Bildung von Schwangerschafts-Dehnungsstreifen. Durch den geänderten Hormonhaushalt ist auch die Psyche mancher Schwangeren beeinträchtigt, was dem Umfeld meist in Form von Stimmungsschwankungen, Depressionen oder Manien auffällt (14).

In den ersten drei Monaten der Schwangerschaft produziert das Corpus Luteum Progesteron und Östrogen. Die Hypophyse wird unterdrückt, damit es nicht zu einer weiteren Follikelreifung kommen kann. Da nun aber der Reiz des Gonadotropins von der Hypophyse wegfällt übernimmt die Plazenta die Produktion von HCG um die Funktion des Corpus Luteum aufrecht zu erhalten. Ab dem Ende des dritten Monats produziert die Plazenta selbst genug Östrogen und Progesteron. Sie reduziert die Sekretion des HCG und es kommt zu einer Involution des Corpus Luteum (15,16).

1.3 Der fetale Kreislauf

Der Kreislauf des Ungeborenen ist auf eine ständige Versorgung durch die Mutter angewiesen, weil er alleine noch nicht in der Lage ist sich selbst zu ernähren. Mit dem Moment der Geburt ändert sich dieser Zustand. Das Kind muss alleine zu atmen beginnen und auch die Nährstoffe werden nicht mehr vom mütterlichen Blut bereitgestellt. Durch die geänderten Druckverhältnisse im kindlichen Körper wird auch der Blutkreislauf umgestellt. Solange sich der Fetus noch im Körper der Mutter befindet, fließt über die Lunge fast kein Blut da im Fruchtwasser eine Atmung nicht notwendig ist (17). Das sauerstoffreiche Blut kommt über die Nabelschnur von der Mutter, fließt zum Herzen und ein Teil (35%) wechselt hier durch das offene Foramen Ovale in das linke Herz. Vom Blut (65%) das Richtung Lunge geht, zweigt noch einmal ein Teil ab, über den Ductus Arteriosus Botalli direkt in die Aorta. Nur 5% der genannten 65% gehen somit effektiv in die Lunge. Die 35% die direkt ins linke Herz übertreten werden in die Aorta ausgeworfen und dienen hauptsächlich zur Versorgung der oberen Körperhälfte (18). Das verbrauchte Blut wird nun wieder der Plazenta zugeführt, über den Leber- und Lungenkreislauf der Mutter gereinigt und wieder auf gesättigt (19).

1.4 Lipide und Lipoproteine in der Schwangerschaft

1.4.1 Veränderungen im Stoffwechsel der Mutter

Der Körper einer Schwangeren braucht für das Wachstum des Embryos, die Reifung anderer Gewebearten wie Brust und Uterus und die Neubildung von Gewebe (Plazenta) mehr Energie und andere Stoffwechselprodukte (14). „Der Kalorienverbrauch der Schwangeren steigt um 9kcal/d im 1. Trimenon und um 216kcal/d im 3. Trimenon (20).“

Zu diesem Zweck stellt sich der Stoffwechsel um. In der ersten Hälfte der Schwangerschaft wird die Energie hauptsächlich benötigt um Gewebe um- und aufzubauen. Im späteren Verlauf sind der Embryo selbst und seine Plazenta die Hauptenergiekonsumenten (14).

Glukose ist einer der wichtigsten Energielieferanten für das Wachstum des Embryos und für die Versorgung der Plazenta. Aufgrund der hormonellen Umstellung tritt in der Frühschwangerschaft eine erhöhte Insulinempfindlichkeit mit gleichzeitig höherer Insulinproduktion auf woraufhin der Nüchtern-Blutzucker abfällt und im zweiten Trimenon seinen Tiefpunkt erreicht. Im weiteren Verlauf der Schwangerschaft entwickelt sich daraufhin eine vermehrte Unempfindlichkeit gegenüber dem Insulin, was bei manchen Frauen zu Schwangerschaftsdiabetes führen kann (14).

Die während der Schwangerschaft von der Plazenta gebildeten Glukokortikoide sind auch potentiell diabetogen. Bei einer gesunden Schwangeren kommt es zur Gegenregulation und zu einem Insulinanstieg. Besteht jedoch ein latenter Diabetes Mellitus kommt es erstmals zur Manifestation eines Gestationsdiabetes. Dieser vergeht meist nach der Geburt wieder, kann aber die Entstehung eines Diabetes Mellitus Typ 2 begünstigen (20).

Zu Beginn der Schwangerschaft stellt sich auch der Fettstoffwechsel auf die geänderten Bedingungen ein. Die Frauen nehmen an Gewicht zu, weil es zur Zunahme der Fettdepots kommt, welche wiederum im Verlauf als Energieträger für Embryo und Plazenta ausgelegt und in der Spätschwangerschaft verwertet werden. Des Weiteren wird auch die Lipolyse zu Beginn gehemmt um einen Fettaufbau zu begünstigen. Und so stellt sich bei den Frauen eine physiologische Hyperlipidämie ein (14).

Auslöser dafür sind bestimmte Hormone, die in der Schwangerschaft vermehrt gebildet werden. Darunter das Östrogen, Progesteron und das bereits genannte Insulin (15).

In der Schwangerschaft kommt es auch durch den Anstieg von Steroidhormonen zu einer Erhöhung der Lipoproteinkonzentrationen (HDL, LDL, Totalcholesterin). Die Cholesterinwerte sind daher in der Frühschwangerschaft üblicherweise am meisten erhöht (20). Der Normalwert bei gesunden nicht Schwangeren liegt zwischen 3.5-5mmol/L. In einer Studie

aus dem Journal of Obstetrics and Gynaecology wurden die Cholesterinwerte über den Verlauf der Schwangerschaft gemessen (21).

Schwangerschaft (Wochen)	Normwert	11-14	19-23	27-29	35-37	postnatal Tage 1-3
Median (mmol/L)		5.1	5.8	6.5	7.2	6.0
Range (mmol/L)	3.5-5	3.8-6.7	4.0-8.5	5.3-10.7	4.5-9.2	3.8-8.5

Tab.1.: Mütterliches Cholesterin über die Schwangerschaft (21)

1.4.2 Veränderungen im Stoffwechsel auf der fetalen Seite

Die für den Stoffwechsel interessanten Veränderungen beginnen erst ab der ca. 7. -8. Woche, wo die Organe größtenteils angelegt sind und ihre Funktion teilweise schon aufgenommen haben. So produziert der Magen bereits Magensaft und die Nieren den Urin. In den Wochen 11 bis 12 wird die Bauchspeicheldrüse aktiv und beginnt mit der Produktion von Insulin, um den Blutzuckerstoffwechsel zu regulieren und auf den Blutglukosespiegel der Mutter zu reagieren. Durch diese erhöhte Glukosebelastung in der Schwangerschaft haben die Kinder später ein erhöhtes Risiko selbst an einem Diabetes zu erkranken. In den weiteren Wochen beginnt die Leber Gallenflüssigkeit zu produzieren und die Schilddrüse nimmt die Hormonproduktion auf, was einen wichtigen Einfluss auf das Wachstum und die weitere Stoffwechsellaage des Babys hat. In der 23.-24. Woche erst werden Nährstoffe über den Darm aufgenommen. Bei Frauen mit GDM neben den Nährstoffen aber auch einen großen Teil Glukose, da bei diesem Krankheitsbild der Fruchtwasserglukosegehalt auch erhöht ist, den das Kind zum Teil auch selber ausscheidet. Ab der 37. Woche übernimmt nun die Plazenta die Produktion von Hormonen und Abwehrstoffen, um den Feten vor schädlichen Einflüssen zu schützen. Leider gelangen viele gerade kleine Stoffe trotzdem über die Plazentaschranke zum Kind. Der Fetus produziert nun auch das Hormon Kortison, welches die Lungen auf den ersten Atemzug außerhalb des Bauches vorbereitet. Beim zu früh geborenen Kind muss der noch unterentwickelten Lunge mittels Surfactant auf die Sprünge geholfen werden. Das ist besonders relevant, da sich mit dem ersten Atemzug die Druckverhältnisse ändern und die Lunge nun den Sauerstoff- und Kohlendioxid-Austausch ermöglichen muss (22). Bei der Mutter sind in der Schwangerschaft die Lipoproteine und Lipide erhöht. Im Gegensatz dazu haben die Feten sehr niedrige Plasma Lipid Spiegel, weil der Transport dieser Stoffe über die Plazenta limitiert sind. Einen geringen Teil produziert der Fetus aber bereits selbst (23). Das Totalcholesterin und das LDL betragen ca. ein Drittel der Konzentration eines Erwachsenen. HDL und Triglyceride hingegen nur die Hälfte. Auch alle Apolipoproteine sind nachweislich verringert(24).

1.5 Gestationsdiabetes

1.5.1 Definition, Klassifikation und Epidemiologie

GDM steht für Gestations Diabetes Mellitus und beschreibt eine in der Schwangerschaft erstmals erkannte Glukosetoleranzstörung, deren Symptome aber meist nach der Schwangerschaft nicht mehr auftreten (25). Er wird auch noch Kohlenhydratstoffwechselstörung (KHSS) genannt (26). GDM ist mit einer erhöhten feto-maternalen Morbidität assoziiert, sowie mit schwerwiegenden Langzeitkomplikationen (25). Bei den meisten Schwangeren verläuft er symptomlos (27). Frauen die die Kriterien eines Diabetes bereits zu Beginn der Schwangerschaft erfüllen, sollen als manifeste Diabetikerinnen klassifiziert und auch behandelt werden und zählen somit nicht zum GDM.

Die Kriterien für einen GDM sind ein Nüchternplasmaglukosespiegel vom $>126\text{mg/dl}$, eine Spontanglukosemessung über 200mg/dl oder einen $\text{HbA1c} >6.5\%$ vor der 20.Schwangerschaftswoche (25).

Die Epidemiologie zeigt, dass zwischen 1% und 12% aller Schwangeren ein GDM auftritt. Die große Variation ergibt sich aus verschiedenen determinierenden Faktoren für den Diabetes. Zum einen wären da die nicht immer einheitliche Klassifikationen und zum anderen die geographischen und ethnischen Einflüsse auf Schwangere (26).

Frauen mit einem oder mehreren nachfolgend genannten Risikofaktoren haben eine erhöhte Chance für das Auftreten eines GDM (25):

- Anamnese eines GDM in früheren Schwangerschaften
- Prädiabetes(=gestörte Glukosetoleranz und/oder Nüchternglukose $>100\text{mg/dl}$)
- Frühere Fehlbildungen und/oder Totgeburten, Wiederholte Aborte ($>3\text{x}$ in Folge)
- Geburtsgewicht über 4500g bei vorherigen Geburten
- Adipositas, Metabolisches Syndrom
- Alter über 45 Jahre
- Bei Gefäßerkrankungen (KHK, Insult, pAVK)
- Bei Diabetessymptomen wie Glukosurie
- Ethnischer Hintergrund (Afro-amerikaner, Süd Asiaten, Hispanics,...)

Ausgetestet wird der GDM mittels oGTT (oraler Glukosetoleranztest) oder der Messung der Nüchternplasmaglukosekonzentration von über 92mg/dl . Beim ersten Auftreten von diabetesspezifischen Symptomen sollte auch bei unauffälligen Vorbefunden eine sofortige Untersuchung erfolgen (Durst, Polyurie, Glukosurie, Makrosomie). Unabhängig davon muss jede Frau in der 24.-28. Schwangerschaftswoche mittels oGTT untersucht werden, außer es ist bereits ein Diabetes bekannt, der therapiebedürftig ist. In diesem Fall wird auf eine zusätzliche Glukosebelastung verzichtet (25).

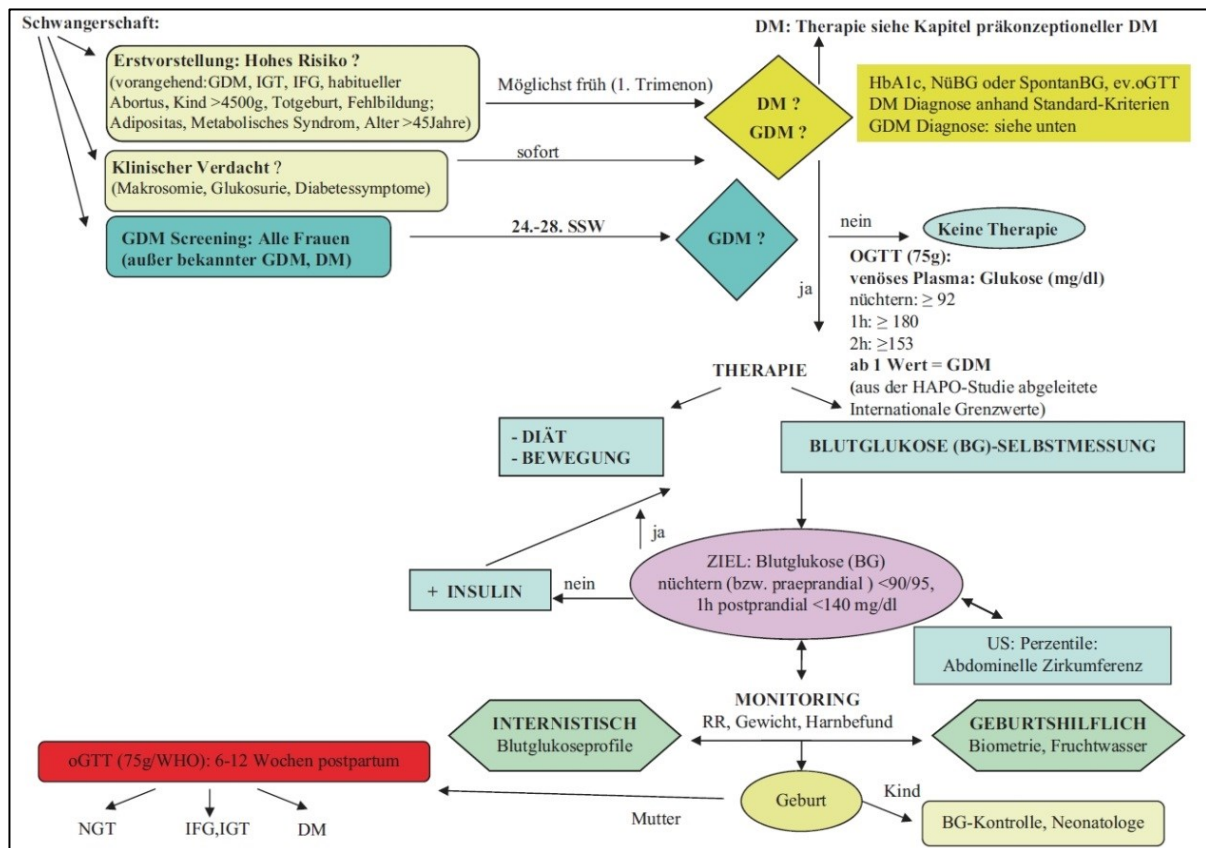


Abb.3.: Leitlinien der österreichischen Diabetes Gesellschaft zur Behandlung von GDM (28)

Klassifikation

Der Schwangerschaftsdiabetes wird mit der sogenannten Klassifikation nach White eingeteilt. Diese Einteilung stammt von einer amerikanischen Ärztin namens Priscilla White und beschreibt verschiedene Kriterien für die Diagnose. Den Manifestationszeitpunkt, die Dauer und auch Spätkomplikationen. In Abb.4. wurden eine Tabelle mit allen möglichen Typen, aus mehreren abgeänderten Klassifikationen zusammengefasst, um alle nur erdenklichen Komplikationen darstellen zu können.

Aber in den meisten Fällen stützt die Einteilung sich auf den oGTT und in weiterer Folge auf weiterführende Untersuchungen. Diese Klassifikation hat auch noch einen weiteren Sinn, denn die Therapie richtet sich danach. Beim Typ A kann zum Beispiel noch mit Diät und Lebensstilveränderung behandelt werden. Da die oralen Antidiabetika teratogen sind wird bei den anderen Typen dann nur noch das Insulin eingesetzt, um die Schäden am Ungeborenen und der Mutter zu reduzieren. Bei den Spezialunterteilungen muss natürlich auch die Folge behandelt werden, wie zum Beispiel eine ischämische Herzerkrankung, anderen Gefäßerkrankungen, Nephropathien und so weiter (26).

White Klassifikation		
Typ		Beschreibung
A	A1	abnormer oGTT/ normaler Nüchtern BZ + 2h nach dem Essen/ keine Symptome
	A2	abnormer oGTT/ abnormaler Nüchtern BZ + 2h nach dem Essen/ keine Symptome
AB		abnormer oGTT/ erhöhtes Fruchtwasserinsulin/ keine Symptome
B0		pathologischer Nüchtern Blutzucker + Tagesprofil /Erstmanifestation in der SS
B		Beginn 20Lj oder Dauer <10 Jahre
C		Beginn 10-19Lj oder Dauer 10-19 Jahre
D		Beginn <10Lj oder Dauer >20 Jahre oder benigne Retinopathie
E		offensichtlicher Diabetes mit verkalkten Beckengefäßen
F		Diabetische Nephropathie
G		Vermehrte Geburtshilfliche Misserfolge
H		ischämische Herzerkrankungen
R		proliferative Retinopathie
RF oder NR		Retinopathie und Nephropathie
T		vorherige Nierentransplantation
PBSP		prognostically bad signs in pregnancy
		Pyelonephritis, Präkoma, schwere Azidose, schwere Präeklampsie, SIH, Unfähigkeit zur guten Führung oder Einstellung des Diabetes (Neglectors)

Abb.4.: Aus mehreren Quellen (26,29,30) zusammengefasste White Klassifikation nach der Diabetes klassifiziert wird

1.5.2 Symptome, Risiken und Folgen

Die betroffenen Frauen haben meist wenige bis keine Symptome, weshalb der Diabetes häufig erst bei der pflichtmäßigen Untersuchung in der 24.-28.SSW auffällt (25). Wenn Symptome bestehen können sie so unspezifisch sein, dass man in erster Linie vielleicht gar nicht an einen Diabetes denkt. Die Betroffenen haben ein erhöhtes Durstgefühl und durch die Flüssigkeitsaufnahme auch eine Polyurie. Was zusätzlich bemerkt wird ist, dass sie meist auch eine Glukosurie haben. Die Frauen sind erschöpft und neigen zu Übelkeit und Erbrechen. Durch die erhöhte Glukose im Harn erkranken sie öfter und leichter an Harnwegsinfekten und durch die geänderte Immunlage auch an Kandidosen. Bei den Kindern fällt eine Makrosomie meist mit Polyhydramnion auf (25,27).

Kindliche Risiken			Mütterliche Risiken
perinatal	postpartal	Langzeitrisko	
IUFT Intrauteriner Fruchttod	Hypoglykämie	Bleibende Schäden/ Behinderungen	SIH Schwangerschafts induzierte Hypertonie
Makrosomie mit Polyhydramnion	„minimal brain damage“	Geburtstrauma mit Behinderungen, Lähmungen,...	Erhöhte Sectionrate durch Makrosomie
Frühgeburtlichkeit	Apathie	Hypoglykämie bis zum Schock	Atonische Uterusnachblutungen
Komplikationen im Geburtsverlauf	Adaptationsstörung	Hyperinsulinismus bis zum Typ2 Diabetes	Entstehung von Diabetes
Protrahierter Geburtsverlauf	Hyperbilirubinämie		Zukünftige Schwangerschafts-komplikationen
Geburtstraumatische Schäden(Schulterdystokie)	Hypokalzämie		

Tab.2.: Die Risiken für Mutter und Kind nach GDM-Erkrankung (26,27)

Folgen

Durch das ständige Einwirken von Glukose aus dem mütterlichen Kreislauf auf das Ungeborene kommt es bei diesem zu einer vermehrten Insulinproduktion, um sich den Anforderungen anzupassen. Durch die Hyperinsulinämie kommt es zu einer Hypertrophie der Beta-Zellen im Pankreas. Die bereits genannte Makrosomie kann während der Geburt ein schwerwiegendes Problem werden, aber auch im späteren Verlauf. Weiters kommt es zu einer Kardiomegalie mit Glukoseeinlagerungen. Die Leber vergrößert sich erleidet aber eine Funktionseinschränkung. Es kommt auch zu einer Einschränkung der Lungenfunktion und in weiterer Folge zu Atemnotsyndromen. Es kann zur fetalen Hypoxie kommen, was wiederum einen Intrauterinen Fruchttod zur Folge haben kann. Alles in allem kommt es zu einer gesteigerten perinatalen Morbidität und Mortalität (26,31).

Als Langzeitfolgen können sich bei den Kindern Behinderungen und geistige Entwicklungsstörungen oder-verzögerungen zeigen (26). Es besteht die erhöhte Chance an einem Diabetes, durch den während der Schwangerschaft ständig erhöhten Glukosespiegel, oder einem Metabolischen Syndrom zu erkranken. Es steigt auch das Risiko auf Cardiovasculäre Erkrankungen, weil das Herz und die Gefäßwände durch den dauerhaft erhöhten Glukosespiegel bereits geschädigt wurden, und Krampfneigung, wegen der kurz nach der Geburt auftretenden Hyperinsulinämie und der daraus folgenden Unterversorgung des Gehirns mit eventuell bleibenden Schäden (31). Die Langzeitfolgen der Mutter bestehen in einer erhöhten Neigung zum Diabetes und weiterer Schwangerschafts-komplikationen bei zukünftigen Schwangerschaften (26).

1.5.3 Behandlung und Prognose

Wie bereits weiter oben erwähnt richtet sich die Art der Therapie unter anderem nach dem White Typ, der bestimmt wurde. Es gibt folgende Möglichkeiten eine Therapie zu gestalten:

- Diätologische Betreuung: Wo je nach Körpergewicht und körperlicher Aktivität ein Diätplan erstellt wird.
- Bewegungsplan: Es wird moderate Körperliche Aktivität empfohlen und mit der Schwangeren geplant.
- Blutzuckerkontrollen: Es ist wichtig, dass die Patientin selbst in der Lage ist ihren Blutzucker zu messen und zu dokumentieren, um den Verlauf über gewisse Zeit beobachten zu können (25).
- Medikamentös: Kurzwirksame Insulinanaloga Aspart und Lispro sind in Wirkung und Prognose dem Humaninsulin gleichwertig (32,33). Glulisin ist kontraindiziert, da keine Ergebnisse zur Verwendung in der Schwangerschaft bekannt sind. Da die Langwirksamen Analoga teurer sind und in Studien keine Vorteile gezeigt haben werden sie auch nicht standartmäßig verwendet (34). Manche oralen Antidiabetika (Glibenclamid und Metformin) werden auch als Alternative zum Insulin genannt, wenn zum Beispiel eine Insulintherapie verweigert wird oder bei besonders dicken Frauen mit sehr hoher Insulinresistenz (25,35). Orale Antidiabetika sind werden allerdings sehr selten und dann nur „Off-label“ eingesetzt, weil sie hochgradig plazentagängig sind und etwaige Nebenwirkungen am Fetus nicht ausgeschlossen werden können (36).
- Geburtshilflich: Häufige Kontrollen und eine bestmögliche Betreuung sollten gewährleistet werden. Auch sollte auf einen idealen Geburtstermin und Geburtsmodus geachtet werden (25).

Prognose

Im Normalfall ist die Diagnose bei gut behandeltem GDM ausgezeichnet, denn in den meisten Fällen bilden sich die Symptome ohnehin nach der Schwangerschaft von selbst zurück. Wenn natürlich eine der oben genannten Folgen und Komplikationen auftritt, richtet sich die Prognose nach der Art und der Ausprägung der entstandenen Krankheit (31).

Gesichert ist, dass eine mütterliche Hyperglykämie im 1.Trimenon mit einem höheren Risiko für die Entwicklung einer diabetischen Embryopathie, im 2. Und 3.Trimenon für die Entwicklung einer diabetischen Fetopathie mit erhöhter Morbidität und Mortalität verbunden ist. Die Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome Study (HAPO) zeigte weiters, dass ein kontinuierlicher Zusammenhang zwischen der Höhe der mütterlichen Blutzuckerwerte im oGTT und den kindlichen Komplikationen besteht (36). Während eine Diättherapie alleine

nicht eindeutig zu besseren fetalen Ergebnissen in Metaanalysen führt, ist die Verbesserung der postprandialen Blutglukosewerte unter Insulintherapie mit einer geringeren Morbidität verbunden. Neue Studien konnten belegen, dass eine Behandlung (Diät, Insulin bei Bedarf) des Gestationsdiabetes das Risiko für schwere kindliche Komplikationen im Vergleich zu unbehandelten Frauen signifikant reduzieren konnte. Es ist klar gezeigt worden, dass Frauen nach Gestationsdiabetes ein besonders hohes Risiko für die Entwicklung eines Typ2 Diabetes haben, sowie dass Lebensstiländerungen im Sinne der Diabetesprävention zu einer deutlichen Verringerung der Diabetesmanifestationsrate führen. Kinder von Frauen mit Gestationsdiabetes haben ein höheres Risiko selbst Übergewichtig zu werden und Stoffwechselstörungen zu entwickeln (25).

1.6 Modifizierte (Lipo-)Proteine

Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) können in der Zelle Proteine, Lipide und DNA oxidieren und sie dabei strukturell schädigen und funktionell verändern. Die Proteine werden durch freie Radikale oxidiert, wobei ihre Aminosäuren auf verschiedene Weise modifiziert oder degradiert werden. Dabei erhalten die Proteine neue funktionelle Gruppen wie Carbonyl- oder Hydroxylgruppen, was in Proteinfragmentierung, Crosslink-Bildung, Zerstörung der Tertiärstruktur und Funktionalitätsverlust resultieren kann. Diese ROS stehen in direktem Zusammenhang mit einigen Krankheiten wie z.B. Arteriosklerose, Alzheimer, Diabetes, Parkinson und rheumatoide Arthritis sowie mit Alterungsprozessen und Kanzerogenese. (41) Oxidativer Stress und daraus resultierende Lipid-Peroxidation werden mit verschiedensten pathologischen Zuständen assoziiert. Nach heutigem Wissensstand wird von einer Beteiligung an neurodegenerativen Erkrankungen, Entzündungsprozessen, Arteriosklerose sowie „Tumorbildung“ ausgegangen (37).

ALEs (advanced lipoxidation end products) stellen verschiedenste Addukte und Vernetzungen dar, die durch nicht enzymatische Reaktionen von RCS (Reaktive Carbonyl Spezies) erzeugt werden. Diese wiederum entstehen durch Lipidperoxidation sowie Lipidmetabolisierung durch nukleophile Reaktionen mit Makromolekülen. Makromoleküle können Proteine, DNA, sowie Aminophospholipide sein, die im Rahmen dieses Prozesses die namensgebende Modifikation erfahren. RCS werden meist im Laufe der üblichen Lipid-Peroxidationskaskade gebildet, unter Beteiligung von freien mehrfach ungesättigten Fettsäuren oder Phospholipiden. Die ALEs stellen somit eine eigene Klasse der kovalent modifizierten Proteine dar. Manche RCS können aber auch durch oxidative Pfade, die Lipide sowie Zucker involvieren entstehen, weshalb die aus diesen RCS resultierenden Reaktionsendprodukte als ALEs, AGEs aber auch EAGLEs (Kombination aus ALE und AGE) bezeichnet werden (38).

AGEs (advanced glycation end products) stellen den ALEs ähnliche Strukturen dar, die jedoch über sowohl oxidative aber auch nicht-oxidative Pfade aus Zuckern oder deren Abbauprodukten gebildet werden können (38).

Posttranslationale Modifikationen

Dazu gehören u.a. Phosphorylierungen und Glycosylierungen, Ubiquitinierungen zum gezielten Abbau von Proteinen oder auch Lipidmodifikationen wie Myristylierungen zur Verankerung des Proteins in der Zellmembran (44)

Zellen besitzen eine Vielzahl von Möglichkeiten, ihre Proteine zu bearbeiten und zu verändern. Dazu besitzen sie eine Vielzahl von Enzymen, die eigens für die Modifikation von der Zelle gebildet werden. Proteinmodifikationsprozesse können konstitutiv ablaufen oder

aber durch Umwelteinflüsse oder andere Parameter beeinflusst werden. Folgende Vorgänge, können zu neuen Proteinspezies führen (39).

1.6.1 Proteinmodifikationen

Co- und posttranslationale Proteinmodifikationen sind Veränderungen von Proteinen während oder nach der Translation. Dazu zählen chemische Änderungen der Aminosäuren des Proteins wie auch das Anfügen von funktionellen Einheiten wie Zuckerresten oder Lipiden. Diese Prozesse finden nach der Synthese am cytoplasmischen Ribosomen statt, meist wird der Vorgang durch den Organismus oder durch die Zellen selbst ausgelöst. Da die an der Translation beteiligten tRNAs mit Ausnahme der Aminosäure Selenocystein nur unmodifizierte Aminosäuren erkennen können, muss die Modifikation nach Translation durchgeführt werden, da nur unmodifizierte Aminosäuren in die Peptidkette aufgenommen werden. Bei Enzymbeteiligung werden meist nur eine oder wenige Aminosäuren modifiziert, die beteiligten Enzyme werden erst durch bestimmte Abfolgen von Aminosäuren (sog. Aminosäuremotive) in der Sequenz aktiviert. Ein weiterer Grund für die späte Modifikation ist die Tatsache, dass viele dieser Modifikationen temporärer Natur sind, sprich im weiteren Verlauf rückgängig machbar bzw. erneut durchführbar sein müssen. Bestes Beispiel hierfür die Phosphorylierung (39).

Seitenkette	Modifikation
Proton(en), -OH-, NH- oder NH ₂ -Gruppen der Seitenketten	können durch Glycosyl-, Phosphat- oder Sulfat-Reste ersetzt sein
NH ₂ -Gruppe der Seitenkette Lysin	Methylierung oder Acylierung
NH ₂ -Gruppe der Seitenkette von Glutamin	Methylierung
NH ₂ -Gruppe der Seitenkette von Asparagin	Glycosylierung
CH ₂ -Gruppe der Seitenkette	Hydroxylierung (Hydroxylysin, Hydroxyprolin) oder Carboxylierung (β-Carboxy-Aspartat, γ-Carboxy-Aspartat)
Seitenketten aromatischer Aminosäuren	Hydroxylierung, Halogenierung oder N-Methylierung
Seitenkette von Cystein	Austausch von S durch Selen (Selenocystein)
Seitenkette von Methionin	S-Alkylierung oder Oxidierung am S (Methionin-Sulfoxid)
"Cross-Links", also kovalente Verbindung benachbarter Seitenketten	Lysino-Alanin (Lysin + Serin) oder Disulfid-Brücken (Cystein + Cystein)

Tab.3.: Modifikationen von Aminosäuren (39)

An diesen Prozessen sind häufig Proteine beteiligt, die durch Modifizierungsgene codiert werden. Diese Genprodukte können abhängig von Umweltfaktoren gebildet oder funktionalisiert werden und Proteine entsprechend beeinflussen (42).

Posttranslationale Proteinmodifikationen stellen eine wichtige Schaltstelle zur räumlich und zeitlich kontrollierten Aktivierung bzw. Inaktivierung von Proteinen oder Signalprozessen dar. Beispiele für diese Modifikationen sind Phosphorylierung, Acetylierung oder Ubiquitinierung. Andere Modifikationen, z. B. Methylierung, Glykosylierung oder die Ausbildung von Disulfidbrücken können dagegen konstitutiv und für die Funktion des Proteins essentiell sein (44).

Während einige der Prozesse unmittelbar am Entstehungsort ablaufen, finden andere an bestimmten Zellorganellen statt, wieder andere erst außerhalb der produzierenden Zelle.

Neben beabsichtigten Proteinveränderungen treten auch ungewollte Proteinmodifikationen auf. Zusätzlich können Proteinketten durch Radikale, durch hochenergetische Strahlung oder andere Proteine (siehe Prionen) beschädigt, verändert oder denaturiert werden und Faltungsisoformen bilden, die der Ursprungskonformation nicht mehr entsprechen und die vorgesehene Funktion nicht erfüllen können (42,44).

1.6.2 Lipidperoxidation

Die Lipidperoxidation ist eine Radikalreaktion, in deren Verlauf chemisch formal ein Sauerstoff Molekül zwischen H-Atom und Molekülrest eingebracht wird. Die Kettenreaktion beginnt dadurch, dass ein Radikal einem Partner ein H-Atom entreißt, dadurch zum gesättigten R-H wird und damit den beteiligten Partner zu einem Radikal macht. Dieses Radikal wiederum steht für weitere Radikalreaktionen zur Verfügung. Bestimmte Polyfettsäurestrukturen sind besonders anfällig, die resultierenden Polyenfettsäureradikale können mit Beteiligung von O₂ Molekülen zu Polyfettsäure- Peroxy-Radikalen reagieren. Diese können ihrerseits einem H-Donor ein H-Atom entreißen, dadurch zu Hydroperoxid dieser Fettsäure reagieren. Aus dieser Reaktion resultiert erneut ein Radikal (die Reste des H-Donors), wodurch erneut eine Radikalreaktion ermöglicht wird. Das resultierende Hydroperoxid der Polyenfettsäure steht ebenfalls weiteren Reaktionen zur Verfügung. So kann es durch weitere Energiezufuhr zu einem Aufspalten an den Sauerstoffatomen der Bindung kommen, wodurch zwei Radikale, ein Hydroxyl- sowie ein Polyenfettsäure-Oxy-Radikal, frei werden. Ein weiterer Reaktionsweg stellt die Interaktion zweier Hydroperoxide unter Wasserabspaltung zu jeweils einem Polyenfettsäure-Peroxy-Radikal und einem Polyenfettsäure-Oxy-Radikal.

In allen geschilderten Fällen wird durch das freisetzen von weiteren Radikalen die Kettenreaktion aufrecht erhalten und nur durch kovalenter Bindung zweier radikale oder durch sog Radikalfänger kann ein Abbruch erfolgen (45).

1.6.3 Pathophysiologie der modifizierten Lipoproteine

Carbonyl

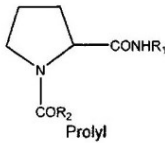
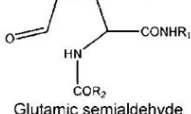
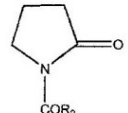
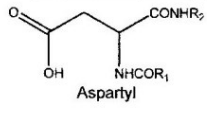
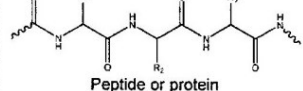
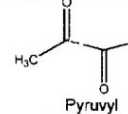
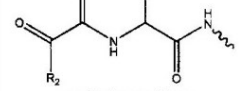
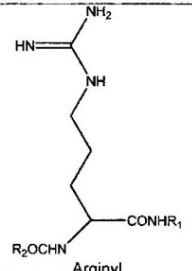
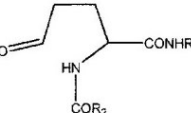
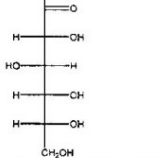
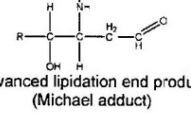
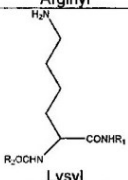
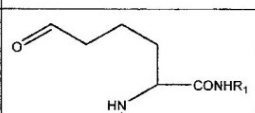
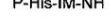
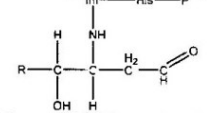
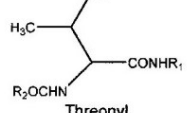
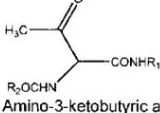
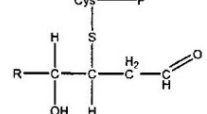
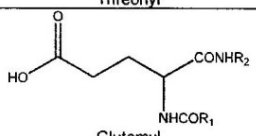
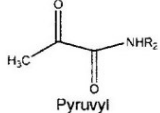
Amino acid	The carbonylation product	Amino acid	The carbonylation product
 Prolyl	 Glutamic semialdehyde  2-Pyrrolidinone	 Aspartyl  Peptide or protein	 Pyruvyl  α -amidation pathway
 Arginyl	 Glutamic semialdehyde	 P-Lys-NH2	 Amadori product (followed by the formation of AGE-adducts)  Advanced lipidation end product (Michael adduct)
 Lysyl	 Aminoalipic semialdehyde	 P-His-IM-NH	 Advanced lipidation end product (Michael adduct)
 Threonyl	 2-Amino-3-ketobutyric acid	 P-Cys-SH	 Advanced lipidation end product (Michael adduct)
 Glutamyl	 Pyruvyl		

Abb.5.: Carbonylprodukte einiger Aminosäuren (40)

Carbonyle oder auch Carbonylproteine sind Oxidationsprodukte von Proteinen. Wegen ihrer Reaktivität können sie mit verschiedenen Methoden sichtbar gemacht werden, da chemische Marker an die Carbonylgruppen binden können. Diese Gruppen stellen einen sehr sensiblen Marker in der Labordiagnostik dar. Durch ihre Darstellung können sie qualitativ und auch mittels ELISA quantitativ gemessen werden bis zum Mikrogramm-Bereich, was wiederum etwas über den oxidativen Stress aussagt, dem ein Gewebe oder Zellen ausgeliefert sind.

Sie entstehen sowohl *in vivo* (im Körper) als auch *in vitro* (im Reagenzglas oder in Kulturen). Die Oxidation von Proteinen ist eine Ursache für geschädigte Enzyme, deren Anzahl mit zunehmendem Alter und bei einer Reihe von pathologischen Zuständen größer wird wie bereits genannt. Die Ursachen für den oxidativen Stress, der zur Bildung dieser Carbonyle führt, sind Stressbelastungen des Organismus jeglicher Art. Eine Rolle spielen Erkrankungen, Operationen und Verletzungen, Ischämische Schäden und Reperfusionen und ganz wichtig Entzündungen. Aber auch Sport (anaerobe oder aerobe Übungen) erhöht die Produktion reaktiver Sauerstoff- und Stickstoffspezies. Deren Oxidationsprodukte unter anderem Carbonylproteine sind. Parallel wird durch die sportliche Betätigung aber auch die endogene antioxidative Abwehr der Zellen aktiviert wodurch es hier nicht in dem Ausmaß zu Schäden kommt, wie es bei Pathologien der Fall ist. Auch in normalem gesundem Gewebe enthalten die Proteine geringe Mengen an Carbonylgruppen, welche sich aber im Nanomol Bereich befinden. Unter den Bedingungen des oxidativen Stresses können diese Werte um den Faktor 2 bis 20 erhöht sein (40).

Lipide

Malondialdehyd (MDA) oder auch Propandial ist ein hochreaktives Molekül. Es entsteht als Abbauprodukt mehrfach ungesättigter Fettsäuren und ist ebenfalls ein wichtiger Marker zur Bestimmung des oxidativen Stresses (43).

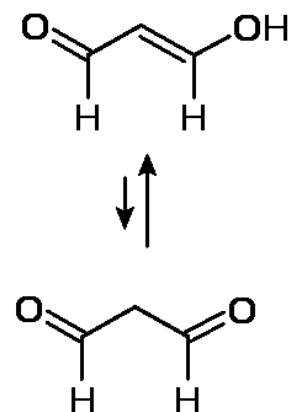


Abb.6.: MDA Strukturformel (43)

Wie die Carbonylproteine kann auch MDA bestimmt werden. Dazu wird die zu untersuchende Lösung (Blutplasma) mit einer Säure versetzt. Ein Molekül Malondialdehyd reagiert dabei mit dem Reagenz zu einem Farbstoff, der ein bekanntes Absorptionsmaximum besitzt und photometrisch oder mit Hilfe der HPLC (einer Form der Flüssigkeitschromatographie) bestimmt werden kann.

Malondialdehyd ist aufgrund seiner chemischen Instabilität auch noch potenziell mutagen, atherogen und kanzerogen. Bei Patienten mit Diabetes mellitus sind die MDA-Spiegel im Plasma signifikant erhöht (43).

2 Material und Methoden

2.1 Charakterisierung der untersuchten Kohorte

Für diese Studie wurden schwangere Frauen im Alter von 23 bis 42 eingeschlossen. Laborparameter und Untersuchungsdaten wurden erhoben, darunter das Alter, der BMI vor der Schwangerschaft, das Gewicht, die Größe, der Blutzucker, sonstige Begleiterkrankungen oder Ausschlusskriterien und ob ein Diabetes besteht. Ein weiterer essentieller Test ist der oGTT. Er wurde ordnungsgemäß bei allen Probandinnen durchgeführt, um einen GDM zu verifizieren oder auszuschließen.

Diese werdenden Mütter wurden dann durch ihre ganze Schwangerschaft begleitet. Es waren 29 gesunde Kontrollen und 15 an GDM erkrankte Schwangere. Vorab war geplant gewesen eine weitere Gruppe mit Frauen, die an Präeklampsie erkrankt waren, ebenfalls in die Untersuchung mit aufzunehmen. Aufgrund der geringen Fallzahl in der Präeklampsie wurde auf eine weitere Untersuchung dieser Fälle verzichtet.

Am Geburtstermin wurde ermittelt, der BMI bei der Geburt, das fetale Gewicht, das Plazentagewicht, die Größe des Kindes, das Geschlecht, die SSW und die korrigierte SSW und der Ponderalindex berechnet.

Auch angegeben wurde die Art der Entbindung. Die Kontrollgruppe hat die Kinder alle per Sectio entbunden, wohingegen die GDMs die Hälfte der Frauen die Kinder spontan gebären. Interessant war es noch für uns zu wissen, welche der Diabetikerinnen medikamentös behandelt wurden und welche nur mittels Diät. In unserer GDM Gruppe waren nur fünf der fünfzehn Frauen mit Novorapid behandelt, alle anderen kamen mit einer geeigneten Diät auf den empfohlenen Blutzuckerwert.

Ethikvotum

Ein Ethikvotum wurde eingereicht und damit die Studie angemeldet.

Votum Nummer: EK Nr: 1004/2013 Version 1

2.2 Klinische Parameter der Patientinnen

Kontrollen

Identifikations-nummer	SSW (Wochen)	SSW korrigiert (Wochen)	BMI vor SS (kg/m ²)	BMI bei Geburt (kg/m ²)	Plazenta-gewicht (g)	Fetal-gewicht (g)	Ponderal-index (kg/m ³)
3	38+2	38	23,6	34,1	1000	3770	13,5
5	40+2	40	31,4	35,0	750	3850	18,0
6	39+1	39	20,0	23,6	520	3210	12,7
7	36+3	36	21,0	n.d.	660	3090	12,2
11	37+4	38	20,8	26,0	520	2974	13,2
26	40+3	40	n.d.	n.d.	1000	4450	n.d.
28	38+2	38	20,3	24,3	500	2930	11,8
30	38+0	38	22,8	28,4	700	3620	13,4
31	38+0	38	n.d.	25,9	640	3070	n.d.
32	37+4	38	n.d.	n.d.	650	3490	n.d.
33	39+1	39	23,8	28,9	500	3200	14,9
34	39+1	39	17,9	29,1	440	2970	11,1
35	37+2	37	28,9	33,6	520	2830	18,1
40	38+1	38	19,4	22,7	410	2766	11,2
43	39+6	40	20,2	29,0	700	3570	12,2
44	38+4	39	22,3	27,7	620	3188	13,9
50	38+3	38	18,9	23,4	540	2476	12,1
51	34+6	35	n.d.	n.d.	500	2696	n.d.
52	38+0	38	23,0	26,2	660	3145	13,7
54	39+1	39	22,3	28,8	750	3860	14,2
58	38+5	39	40,4	43,0	520	3116	24,5
59	36+5	37	n.d.	21,3	450	2650	11,0
62	37+1	37	23,9	29,4	520	4400	14,0
63	37+1	37	20,0	n.d.	660	2670	11,2
64	38+1	38	24,5	28,4	600	3200	13,9
69	39+1	39	21,5	28,1	680	3166	13,4
Mittelwert		38	23,2	28,4	616	3245	13,8
STABW			5,1	4,9	148	507	3,0
Anzahl n=26	mütterlich				fetal		

Tab.4.: Daten der Kontrollgruppe

GDM

Identifikations- nummer	SSW (Wochen)	BMI vor SS(kg/m ²)	BMI bei Geburt(kg/m ²)	Plazenta- gewicht(g)	Fetalge- wicht(g)	Ponderal- index(kg/m ³)	Therapie
P1	40	25,5	28,2	490	2590	15,6	Diät
P3	38	23,1	26,4	460	3130	14,1	Novorapid
P4	39	26,1	32,4	700	3430	15,1	Diät
P5	40	40,1	41,3	550	3220	22,5	Diät
P6	41	27,1	32,7	770	4290	16,6	Diät
P9	39	24,2	29,1	650	3430	13,8	Novorapid
P10	39	n.d.	29,2	650	3240	n.d.	Diät
P11	41	35,4	39,0	750	3780	21,1	Novorapid
P12	41	21,3	25,3	550	3180	12,9	Novorapid
P13	39	24,2	28,0	530	3500	14,2	Diät
P14	39	26,8	30,0	430	2595	17,0	Novorapid
P16	39	20,3	23,3	630	3350	12,5	Diät
P17	39	23,0	28,6	890	3980	14,1	Diät
P24	37+0	23,2	n.d.	730	3260	13,6	Diät
P25	40+2	36,7	44,4	860	3925	22,3	Diät
Mittelwert	40	26,9	31,3	643	3393	16,1	
STABW		6,1	6,2	141	468	3,4	
Anzahl n=15	mütterlich			fetal			

Tab.5.: Daten der Diabetesgruppe

Die Schwangerschaftswoche (SSW) bezieht sich auf die Dauer der Schwangerschaft. Die Zahlen geben die Anzahl an vollendeten Wochen wieder. Steht ein + und eine weitere Zahl dahinter bezieht sich das auf die Tage der nächsten angefangenen Woche.

Beispiel: 34+3 = 34 abgeschlossene SSW + 3 Tage der 35. SSW = korrigierte SSW auf 35 (46).

Der Body Mass Index (BMI) ist ein einfacher Wert, der Gewicht und Größe einbezieht, um eine Einteilung in Untergewicht, Normalgewicht, Übergewicht und Adipositas bei Erwachsenen zu erlauben. Dieser ist definiert als Gewicht in kg dividiert durch die Größe in m zum Quadrat (kg/m²) (47).

Classification	BMI(kg/m ²)	
	Principal cut-off points	Additional cut-off points
Underweight	<18.50	<18.50
Severe thinness	<16.00	<16.00
Moderate thinness	16.00 - 16.99	16.00 - 16.99
Mild thinness	17.00 - 18.49	17.00 - 18.49
Normal range	18.50 - 24.99	18.50 - 22.99
		23.00 - 24.99
Overweight	≥25.00	≥25.00
Pre-obese	25.00 - 29.99	25.00 - 27.49
		27.50 - 29.99
Obese	≥30.00	≥30.00
Obese class I	30.00 - 34.99	30.00 - 32.49
		32.50 - 34.99
Obese class II	35.00 - 39.99	35.00 - 37.49
		37.50 - 39.99
Obese class III	≥40.00	≥40.00

Source: Adapted from WHO, 1995, WHO, 2000 and WHO 2004.

Abb.7.: Internationale Klassifikation des Gewichts bezogen auf den BMI (47)

Zur besseren Übersicht wurde die Tab.6. hier zusammengefasst.

Untergewicht	Normalgewicht	Übergewicht	Adipositas	Schwere Adipositas
<18.5	<25	≥25	≥30	≥40

Tab.6.: Zusammenfassung der BMI Grenzwerte aus Tab.6. (47)

Der Ponderalindex (48,49,50) auch Rohrer-Index zur Erklärung ist, ähnlich dem BMI, das Körpergewicht (Körpermasse) und die Körpergröße in Relation gesetzt. Unterschied zum BMI ist, dass die Größe l in m zur dritten Potenz genommen wird um ein fiktives Volumen darzustellen. $PI = \frac{m}{l^3}$ mit m in kg und l in m.

Normale Werte liegen zwischen 11 und 14 kg/m³, das entspricht dem Normalgewicht. Laut Angaben bietet dieser Index auch für besonders kleine (Kinder) und auch sehr große Körpergrößen valide Aussagen(48,49,50).

Die Tab.8. zeigt die Werte die für p als signifikant festgelegt wurden und in der Folge bei der Diskussion der Ergebnisse verwendet werden.

p<	0,05	*
p<	0,01	**
p<	0,001	***

Tab.7.: Signifikanzgrößen

Beim Betrachten der Kontrollgruppe fällt auf, dass schon zwei der 26 Probandinnen von vornherein adipös sind, im Mittel ist der BMI mit 23.2kg/m^2 allerdings im Normbereich. In dieser Gruppe gibt es im Vergleich zur GDM Gruppe auch eine Untergewichtige (BMI 17.9kg/m^2) und zwei nahe am Untergewicht (BMI 19.4kg/m^2 , 18.9kg/m^2) liegende Frauen. In Folge zeigt sich, dass bei diesen Frauen und denen mit ähnlich niedrigem BMI auch der Ponderalindex der Kinder entsprechend niedrig ist ($< 13\text{kg/m}^3$). Bei den Patientinnen mit höherem mütterlichem BMI korreliert dieser mit dem Ponderalindex der Kinder. Am BMI der Mutter bei der Geburt zeigt sich, dass die gesamte Gruppe nun mit einem mittleren BMI von 28.4kg/m^2 übergewichtig ist. Lediglich vier der Frauen sind mit dem BMI im Normbereich geblieben, sie hatten aber einen Anstieg des BMI um nur durchschnittlich 3.9kg/m^2 . Die gesamte Gruppe stieg um durchschnittlich 5.5kg/m^2 an. Beim Plazentagewicht zeigt sich, dass bei einem niedrigen Plazentagewicht auch das Fetalgewicht entsprechend gering war und das bei den Frauen mit niedrigem Ausgangs-BMI. Im Durchschnitt waren die Kinder bei der Geburt 61.8cm . Die Kinder der Kontrollgruppe wurden im Mittel nach 38 Wochen geboren.

Wenn man nun die GDM Gruppe betrachtet fällt auf, dass es in der GDM Gruppe schon vor der Schwangerschaft drei Patientinnen adipös sind. Der Mittelwert der BMIs vor der SS zeigt auch, dass die gesamte Gruppe im Mittel schon vor der Schwangerschaft mit einem BMI von 26.9kg/m^2 übergewichtig war. Während der Schwangerschaft stiegen sie durchschnittlich um 4.2kg/m^2 an. Was im Mittel nur auf eine gering höhere Gewichtszunahme schließen lässt. Wie bei den Kontrollen zeigt auch hier der Ponderalindex eine Korrelation zum erhöhten BMI vor der Schwangerschaft. Je höher der BMI war umso höher war auch der Ponderalindex. Bei dem Plazentagewicht und beim Fetalgewicht besteht kein wesentlicher Unterschied zur Kontrollgruppe, aber der Ponderalindex zeigt einen deutlich höheren Wert (13.8kg/m^3 bei den Kontrollen zu $16,1\text{kg/m}^3$ bei den GDM). Das bedeutet, dass die Kinder dieser Gruppe um einiges kleiner sind als die Kinder der Kontrollen, im Durchschnitt sind sie nur 59.9cm groß. In dieser Kohorte waren auch fünf insulinpflichtige Diabetikerinnen eingeschlossen, der Rest konnte mit einer Diät im gewünschten Blutzuckernormbereich gehalten werden. In dieser Gruppe fand die Geburt durchschnittlich in der 40 Schwangerschaftswoche statt.

Kriterien der untersuchten Kohorte

Für unsere Studie gibt es zwei große Gruppen. Die an einem GDM erkrankten werdenden Mütter und die zu vergleichende gesunde Kontrollpopulation.

Hauptvoraussetzung für die GDM Gruppe war eine bestehende Schwangerschaft und ein, bei der ersten Untersuchung, positiv gemessener oGTT. Unsere GDM Gruppe bestand aus schwangere Frauen mit einem Diabetes, der während der Schwangerschaft aufgetreten war (GDM). Die White Klassifikationen A, B0 und AB sind unter den Frauen dieser Gruppe vertreten. Keine der Damen hatte einen bekannten präexistenten und/oder insulinpflichtigen Typ 1 Diabetes Mellitus (n=15).

Unsere Kontrollgruppe bestand aus gesunden schwangeren Frauen. Ein negativer oGTT war hiermit Voraussetzung. Hier galt als Ausschlusskriterium lediglich das Vorhandensein einer Schwangerschaftspathologie in der jetzigen oder in vorherigen Schwangerschaften (n=26).

Der oraler Glukose Toleranz Test

Er gilt als zuverlässige Screening Methode um einen Diabetes rechtzeitig in der Schwangerschaft zu erkennen. Er ist verpflichtend in den Mutter-Kind-Pass Untersuchungen durchzuführen.

Der oGTT bedeutet oraler Glukose Toleranz Test und meint damit die Reaktion des Körpers auf eine hohe Dosis Glukose. Normalerweise wird er während der Schwangerschaft zwischen der 24.-28.SSW durchgeführt. Bei Risikopatientinnen früher (25).

Die Frauen erscheinen am Morgen des Untersuchungstermins nüchtern (8-16 Stunden) in der geburtshilflichen Ambulanz. Es wird eine periphere Leitung gelegt, über die die Blutabnahmen zu den angegebenen Zeiten durchgeführt werden, damit die Patientinnen nur einmal gestochen werden müssen. Es erfolgt eine erste basale Blutabnahme um die Nüchtern Werte zu bestimmen. Gemessen werden die venöse Plasmaglukosekonzentration, der Seruminsulinspiegel und das c-Peptid. Nun bekommen die Schwangeren 75g Glukose gelöst in 250ml Wasser, welche sie innerhalb von 5 Minuten trinken müssen. Nun misst man die genannten Blutwerte nach 30, 60 und 120 Minuten (51). Durch die erhaltenen Werte wird beobachtet, wie effektiv der Körper mit übermäßiger Glukose umgehen kann. Zwischen den einzelnen Blutabnahmen sollten sich die Frauen nicht übermäßig bewegen, da dies die Glukoseverwertung beeinflussen kann (52). Nach allen Messungen erhält man schließlich die Werte, die man mit den Richtlinien vergleichen kann. In Österreich gilt es als Glukosetoleranzstörung, wenn einer oder mehrere der gemessenen Werte die festgelegten Grenzen überschreiten (52).

Zeitpunkt 24+0-27+6 SSW	Diagnose- Grenzwerte venöses Plasma	
	(mg/dl)	(mmol/l)
Nüchtern	92	5,1
Nach 1 Stunde	180	10,0
Nach 2 Stunden	153	8,5

Tab.8.: Diagnose-Grenzwerte für GDM im venösen Plasma (53)

2.3 Serum/Plasmaproben

Mütterlich

Es wurde den Müttern Vollblut abgenommen, je 2x6ml venöses Blut mittels EDTA-Röhrchen. Der Abnahmezeitpunkt durfte nicht länger als 24 Stunden post partum stattfinden, weil das die Ergebnisse verfälscht hätte. Nachdem das Blut gewonnen worden war, wurden die Proben weiter behandelt wie unter dem nächsten Punkt beschrieben.



Abb.8.: EDTA Blutröhrchen (54)

Fetal



Abb.9.: Nabelschnurblutabnahme (55)

Es wurde auch fetales Blut abgenommen je einmal Nabelschnur arterielles und venöses Blut nach der Entbindung aus der Plazenta, ebenfalls mit EDTA-Röhrchen.

Die Blutproben wurden dann bei 3500U/10min zentrifugiert und das gewonnene Serum zu den Untersuchungen herangezogen. Wegen der Dauer der Tests wurde das Serum eingefroren, damit es auch später noch verwendbar ist.

Geplant war es nur das mütterliche und fetale venöse Blut zu benutzen. Bei vier Feten der Kontrollgruppe war es allerdings nötig, das arterielle Nabelschnurblut heran zu ziehen, da die venösen Proben nicht verwendbar waren. Das wurde dann bei den späteren Datenauswertungen miteinbezogen, hatte aber keinen speziellen Folgen auf die Ergebnisse der Studie.

2.4 Labormaterialien

2.4.1 Proteinbestimmung (nach Bradford)

Dieser Test dient zur photometrischen quantitativen Bestimmung von Proteinkonzentrationen in einer biologischen Probe (Serum,...). Der Farbstoff CBBG (Comassie-Brilliant-Blau G250) bildet in saurer Lösung mit den kationischen und unpolaren Seitenketten von Proteinen Komplexe. Die vorhandenen Protein-Farbstoff-Komplexe führen zu einer Verschiebung des Absorptionsmaximums von etwa 465nm auf 595nm. Da das Ausmaß der Absorption proportional der Menge an vorhandenem Protein ist, kann somit die Proteinkonzentration durch die Absorption in der Lösung ermittelt werden.

Bei der Durchführung wird zuerst eine Standardreihe, verdünnt aus einem BSA Proteinstandard mit bekannter Konzentration, hergestellt. Es sind aufsteigend folgende Proteinkonzentrationen als Referenz. 0mg/ml (nur Buffer als Blank/Leerwert), 0.25mg/ml, 0.5mg/ml, 1.0mg/ml, 1.4mg/ml. Gemessen wird auf einer 96-Well Platte. Zuerst wird das Bradford-Reagenz, das die Reaktion auslöst in einer Flasche bei Raumtemperatur zusammengemischt. Die oben genannte Standardreihe wird vorbereitet. Nun werden bei der Platte vertikal von rechts oben zuerst 5µl Blank und dann die anderen Standards je in Triplets aufgetragen. Danach kommen 5µl der unbekannten Proben je in Triplets auf die Platte. Als nächsten Schritt gibt man in jedes Well 250µl des Bradford Reagenz und mixt es für 30 Sekunden am Orbitalshaker. Die Proben werden bei Raumtemperatur 5-45 Minuten inkubiert. Der entstehende Farbkomplex ist für 60 Minuten stabil und sollte gleich bei einer Absorption von 595nm gemessen werden. In Bezug auf die Standardkurve kann man nun die genauen Proteinkonzentrationen berechnen (56).

2.4.2 OxiSelect™ Protein Carbonyl ELISA Kit

ELISA, ein Enzym-Immuno Assay; wurde für die schnelle Detektion und quantitative Bestimmung von Carbonyl-Proteinen entwickelt. Die Konzentration von Carbonylproteinen in der Probe wird bestimmt durch den Vergleich der Absorption der Probe mit bekannten reduziertem/oxidiertem BSA Standardkurve.

ELISA bedeutet Enzyme-linked Immunosorbent Assay. Er handelt sich hier um einen enzymgebundenen Nachweis einer Antigen-Antikörper Reaktion, die farblich gemessen werden kann. Das nachzuweisende Antigen wurde ursprünglich über einen Erstantikörper an eine Mikrotiterplatte gebunden, ein Enzym-gekoppelter Zweitantikörper (synonym: Detektionsantikörper) führte nun zur Reaktion eines Farbstoffsubstrates. Und genau dieses Farbsubstrat kann man photometrisch messen.



Abb.10.: ELISA 96-Well Platte (58)

Es wird eine Standardreihe aus geänderten Verhältnissen von reduziertem und oxidiertem BSA verdünnt. Im Blank befindet sich hier nur reduziertes BSA und kein oxidiertes. Bei der höchsten Konzentration ist nur mehr oxidiertes BSA enthalten. Dadurch ergibt sich eine Konzentrationsreihe von 7.5nmol/mg, 6.0nmol/mg, 4.5nmol/mg, 3.0nmol/mg, 1.5nmol/mg, 0.75nmol/mg, 0.375nmol/mg, 0nmol/mg. Alle unbekannten Proben werden auf eine Konzentration von 10µg/ml Protein verdünnt. Mann trägt jetzt 100µl der Standards und der unbekannten Proben in Triplets auf 96-Well Platten auf, die speziell beschichtet sind, damit sie Proteine binden. Nun werden die Platten bei 4°C über Nacht inkubiert. Am nächsten Tag werden die Platten mit je 250µl PBS (Phosphatgepufferte Salzlösung (kurz PBS von englisch phosphate buffered saline)) 3x gewaschen. Im nächsten Schritt gibt man je 100 µl DNPH Working Solution hinzu und inkubiert es für 45 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln. Im Anschluss werden die Proben mit einer 1:1 Verdünnung PBS mit Ethanol gewaschen mit einer Inkubationszeit von 5 Minuten am Orbitalshaker. Dieser Vorgang wiederholt sich 5x. Nach dem 5.Mal wird wieder 2x nur mit PBS gewaschen. Nun werden 200µl einer Blocking-Solution hinzugefügt und für 1-2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Weiters wird 3x mit einem speziellen Wasch Buffer-gewaschen, bevor der verdünnte Anti-DNP Antikörper in je 100µl auf die Wells aufgetragen wird. Es folgt eine Inkubation von 1 Stunde mit nachfolgendem Waschvorgang mit Wasch-Buffer. Im nächsten Schritt kommen 100µl verdünnter HRP konjugierter Zweitantikörper dazu. Es folgt wieder eine 1 stündige Inkubation mit darauffolgender Waschung. Jetzt werden 100µl Substrat-Solution zu jedem Well hinzugefügt und bei Raumtemperatur auf einem Orbitalshaker für 2-30 Minuten(je nach

Geschwindigkeit der Farbreaktion) inkubiert. Im letzten Schritt wird nun die Reaktion gestoppt indem man 100µl einer Stop-Solution hinzugibt. Nun kann man die Ergebnisse bei 450nm umgehend ablesen, da die Farbe sonst verbleicht und die Ergebnisse verfälscht, und mit Hilfe der Standartkurve die Proteincarbonylkonzentration berechnen (57).

2.4.3 Cholesterinbestimmung nach der CHOD-PAP-Methode

Es ist ein *in-vitro*-Reagenz Test für die quantitative Bestimmung von Totalcholesterin in Serum oder Plasma (59).

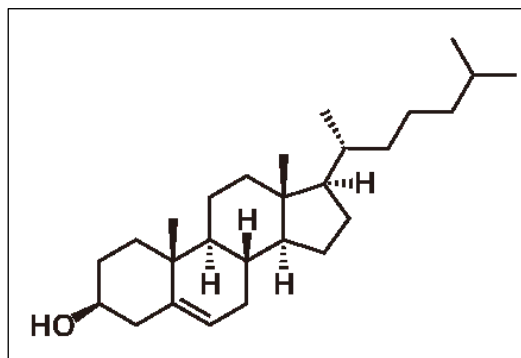


Abb.11.: Cholesterinmolekül (60)

Cholesterin formt einen blau-grünen Farbstoff aus polymerischen ungesättigten Carbohydraten in saurem Milieu.

Diese Methode basiert auf der Bestimmung von D4 Cholesteron nach enzymatischer Abtrennung des Cholesterinesters durch Cholesterinesterase, der Umwandlung des Cholesterins durch Cholesterinoxidase und die folgende Bestimmung durch die Trinder-Reaktion (Abb.10.) oder auch Peroxidase-Methode des gebildeten Hydrogenperoxids.

Nachdem Cholesterin im Serum verestert vorliegt muss es im ersten Reaktionsschritt mit Cholesterinesterase behandelt werden. Im nächsten Schritt wird dann mit der Cholesterinoxidase unter sauerstoffverbrauch das freie Cholesterin oxidiert, wobei Wasserstoffperoxid entsteht. Nun wird mit dem H_2O_2 und einem Farbstoff Phenol und 4-Aminophenazon eine rote Farbe erzeugt. Die Farbintensität ist direktproportional zu der vorhandenen Cholesterinkonzentration in der Lösung. Diese Rot kann dann mit einem Photometer bei einer Wellenlänge von 500nm gemessen werden (59).

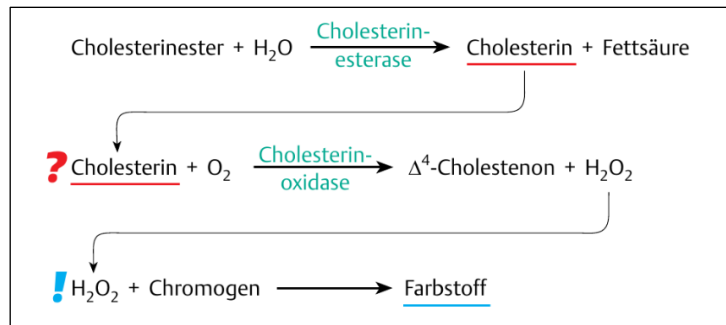


Abb.12.: Trinder-Reaktion (61)

Es werden auf eine 96-Well Platte je 5µl der unverdünnten Proben und der Standards aufgetragen. Es folgt eine Zugabe von 200µl Reagenz. Nach dem 10 minütigen Inkubieren bei Raumtemperatur werden die Werte bei 500nm abgelesen und mit Hilfe des Standards die Konzentrationen berechnet (59).

2.4.4 Scan Drop Photometer

Photometer zur Messung von RNA kleinster Volumina und Bestimmung von Proteinkonzentrationen. Um das vorherige Ergebnis der Cholesterinbestimmung besser beurteilen zu können wurden die Konzentrationen des Gesamtcholesterins noch einmal mittels Scan Drop Photometer gemessen. Der Apparat ist genauer und benötigt geringere Mengen an Proben als bei der normalen Photometrie (62).



Abb.13.: Scan Drop (62)

Aufgrund der geringen Menge an Proben ist es mit diesem Gerät möglich Volumina von bis zu 0,3µl zu messen. Auch bei Volumina zwischen 0,3µl bis 2,0µl garantiert das Gerät ausgezeichnete Reproduzierbarkeit der Werte. Wegen der hohen Energieaufnahmefähigkeit ist ein Verdünnen der Proben meist nicht nötig. Die mögliche Wellenlänge reicht von 190nm-720nm (63).

2.4.5 OxiSelect™ MDA Adduct ELISA Kit

ELISA, ein Enzym-Immuno Assay; wurde für die schnelle Detektion und quantitative Bestimmung von MDA-Protein Verbindungen entwickelt. Die Konzentration wird bestimmt durch das Vergleichen der Absorption der Proben mit einer bekannten MDA-BSA Standardkurve.

Zu Beginn wird eine zu bestimmende Standardreihe verdünnt, aus MDA-BSA und reduziertem BSA in fallender Konzentration (120pmol/ml, 60pmol/ml, 30pmol/ml, 15pmol/ml, 7.5pmol/ml, 3.75pmol/ml, 1.875pmol/ml, 0pmol/ml), und zu je 100µl in Triplets auf die 96-Well Platten aufgetragen. Die Proben werden einheitlich auf 10µg/ml Gesamtprotein verdünnt und ebenfalls in dreifacher Ausführung zu je 100µl in die Wells gegeben. Die Platten werden bei 4°C über Nacht inkubiert. Am nächsten Tag werden die Proben 2x mit PBS gewaschen. Nun werden 200µl Assay-Diluent hinzugefügt und für 1-2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Es folgen 3 Wäschen mit einem speziellen Wasch-Buffer. Als nächstes werden 100µl verdünnter Anti-MDA Antikörper hinzugefügt und 1 Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wird 3x gewaschen mit dem Wasch-Buffer. Im nächsten Schritt werden 100µl des verdünnten Zweitantikörpers (HRP Konjugate) zugegeben und wieder 1 Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Es folgt wieder ein Wasch Schritt dieses Mal 5x mit Wasch-Buffer. In der Folge werden nun 100µl Substrat-Solution hinzu gegeben und bei Raumtemperatur auf einem Orbitalshaker 2-30 Minuten inkubiert, je nach Geschwindigkeit der Reaktion. Nun wird die Reaktion gestoppt durch zugeben von je 100µl Stop-Solution. Die Ergebnisse sollten möglichst schnell bei 450nm abgelesen werden, weil die Farbe mit der Zeit verblasst und das Ergebnis verfälscht (64).



Abb.14.: MDA ELISA Kit (65)

2.4.6 LabAssay™ Triglyceride (GPO•DAOS method)

Basiert auf einer enzymatischen Methode die DAOS (N-ethyl-N(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline Sodium Salz) als blaues Pigment einsetzt. Der Farbstoff wird zur quantitativen Bestimmung von Triglyceridkonzentrationen im Serum verwendet.

Die Triglyceride in einer Probe werden hydrolysiert zu Glycerol und freien Fettsäuren durch den Katalysator LPL (Lipoproteinlipase). Glycerol wird unter Energieverbrauch umgewandelt in Glycerol-6-Phosphat durch die GK (Glycerolkinase). Glycerol-3-Phosphat wird mit der GPO (Glycerol-6-Phosphat Oxidase) oxidiert und es entsteht H_2O_2 . Das entstandene Wasserstoffperoxid bringt DAOS und 4-Aminoantipyrin mit Hilfe der POD (Peroxidase) dazu ein blaues Pigment zu bilden. Welches korreliert mit der Menge an Triglyceriden in der Probe und welches man photometrisch messen kann (66).

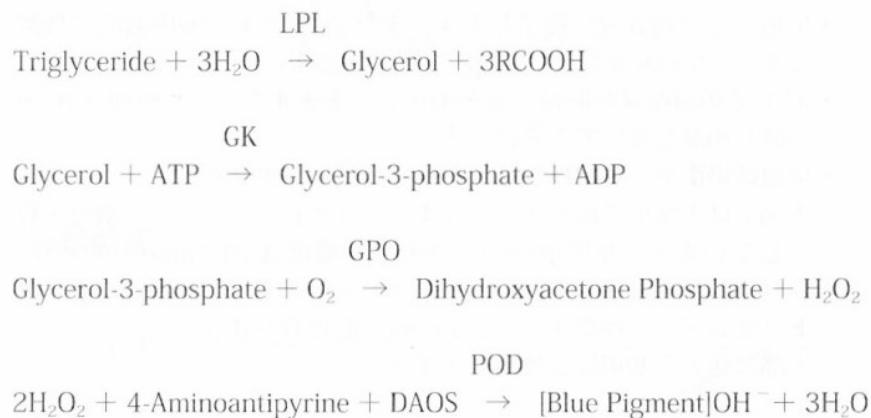


Abb.15.: Triglyceridbestimmung mit der DAOS Methode (66)

Zuerst wird eine Standardreihe verdünnt, aus einem bekannten Triglycerid Standard und destilliertem Wasser. Es entstehen Konzentrationen von 0mg/dl, 100mg/dl, 200mg/dl, 300mg/dl, 596mg/dl, 882mg/dl.

Nun werden 2µl der Proben und der Standardreihe auf eine 96-Well Platte gegeben. Ein Triplet bleibt leer als Blank. Nun gibt man in jedes Well 300µl Farbreagenz dazu. Das Ganze inkubiert man bei 37°C für 5 Minuten. Nun misst man die Absorption im Photometer bei 600nm. Mit der Standardreihe kann man sich nun die genauen Konzentrationen der Proben errechnen (66).

3 Hypothese und Fragestellung

Oxidativer Stress wird assoziiert mit Diabetes mellitus Typ 2, jedoch ob auch GDM damit in Verbindung gebracht werden kann ist noch unbekannt.

Serumproteine können sowohl über enzymatische Reaktionen als auch über freie Radikale modifiziert werden. Reaktive Sauerstoffradikale zum Beispiel modifizieren die Aminogruppe der Seitenketten folgender Aminosäuren: Prolin, Arginin, Lysin und Threonin. Diese Carbonyl-derivate, die auf zellulärer Ebene wie bei der Alterung von Zellen und Organellen erhöht nachgewiesen wurden, werden auch mit Krankheiten wie Alzheimer, Parkinson und Diabetes assoziiert.

In dieser Arbeit wird die Hypothese überprüft, ob im Serum von Müttern als auch im Serum der Feten bei Schwangerschaftspathologien erhöhte carbonylierte Proteine nachweisbar sind und ob diese Proteinderivate mit klinischen mütterlichen und fetalen Parametern korrelieren. Wäre ein Zusammenhang zwischen Schwangerschaftspathologie (Diabetes oder Preeklampsie) und Carbonylierung feststellbar könnte eine pränatale Untersuchung des mütterlichen Serums während der Schwangerschaft eine Abschätzung über Verlauf der Krankheit und ev. postnatale Folgen des Kindes möglich werden.

Erwartet werden erhöhte Konzentrationen von carbonylierten Proteinen bei Schwangeren mit Pathologien, wie z.B.: insulinpflichtiger Diabetes (T1DM), Schwangerschaftsdiabetes (GDM) und Präeklampsie (PE) im Vergleich zu der Kontrollgruppe. Die Frage inwieweit die mütterlichen mit den fetalen Konzentrationen an carbonylierten Proteinen korrelieren wird in den einzelnen Gruppen zu überprüfen sein.

Carbonylierte Proteine wirken auf zellulärer Ebene dysfunktional. Ob durch Pathologien in der Schwangerschaft, dadurch vermutlich erhöhte Proteincarbonylierung auch mit Veränderungen der Plazenta zusammenhängen wird ebenfalls überprüft.

4 Ergebnisse

4.1 Systematischer Vergleich der Kohorte

4.1.1 Klinische Daten

	Kontrollen	STABW	GDM	STABW	Signifikanz	
mütterlich	n=26		n=15			
SSW (Wochen)	38	±1	40	±1	p=0,003	**
BMI vor SS (kg/m ²)	23,2	±5,1	26,9	±6,1	p=0,011	*
BMI bei Geburt(kg/m ²)	28,4	±4,9	31,3	±6,2	p=0,157	/
fetal						
Plazentagewicht (g)	616	±148	643	±141	p=0,424	/
Fetalgewicht (g)	3245	±507	3393	±468	p=0,358	/
Ponderalindex (kg/m ³)	13,8	±3,0	16,1	±3,4	p=0,009	**

Tab. 9.: Vergleich der klinischen mütterlichen und fetalen Daten beider Gruppen

Die beiden Gruppen wurden auf die sechs oben genannten Eigenschaften untersucht: Schwangerschaftswoche, BMI vor und bei der Geburt, Plazentagewicht, Fetalgewicht und Ponderalindex. Bei den drei Eigenschaften BMI bei der Geburt, Plazentagewicht und Fetalgewicht war der Unterschied nicht signifikant, das heißt es gibt statistisch gesehen keine brauchbare Aussage zu den Unterschieden dieser Eigenschaften der beiden Gruppen. Beim BMI vor der Schwangerschaft war der Unterschied signifikant (p=0,011) indem der BMI in der GDM Gruppe deutlich erhöht zur Kontrollgruppe liegt. In Abb.16. noch einmal die graphische Darstellung der signifikanten Werte. Bei den Schwangerschaftswoche mit p=0,003, und dem Ponderalindex mit p=0,009, war das Ergebnis sogar deutlich signifikant. Hier zeigt sich, dass zwar im Plazentagewicht und dem Fetalgewicht keine wesentlichen Unterschiede bestehen, der Ponderalindex allerdings einen signifikanten Unterschied aufweist. Da aber Fetalgewicht und Ponderalindex in einer Formel zusammenhängen heißt das im Umkehrschluss, dass die Kinder einer Gruppe in diesem Fall der GDMs deutlich kleiner sind als die der Kontrollen. Beim BMI vor der Schwangerschaft kann man sehen, dass die GDM Gruppe im Mittel bereits vor der Schwangerschaft übergewichtig (BMI=26,9kg/m²) war, im Vergleich zur im Durchschnitt normalgewichtigen Kontrollgruppe(BMI=23,2kg/m²). Da aber der BMI bei der Geburt keinen signifikanten Unterschied aufweist zeigt das, dass die beiden Gruppen sich aneinander angeglichen haben. Die Länge der Schwangerschaft war bei den Kontrollen (38 Wochen) signifikant kürzer als bei den GDM (40 Wochen).

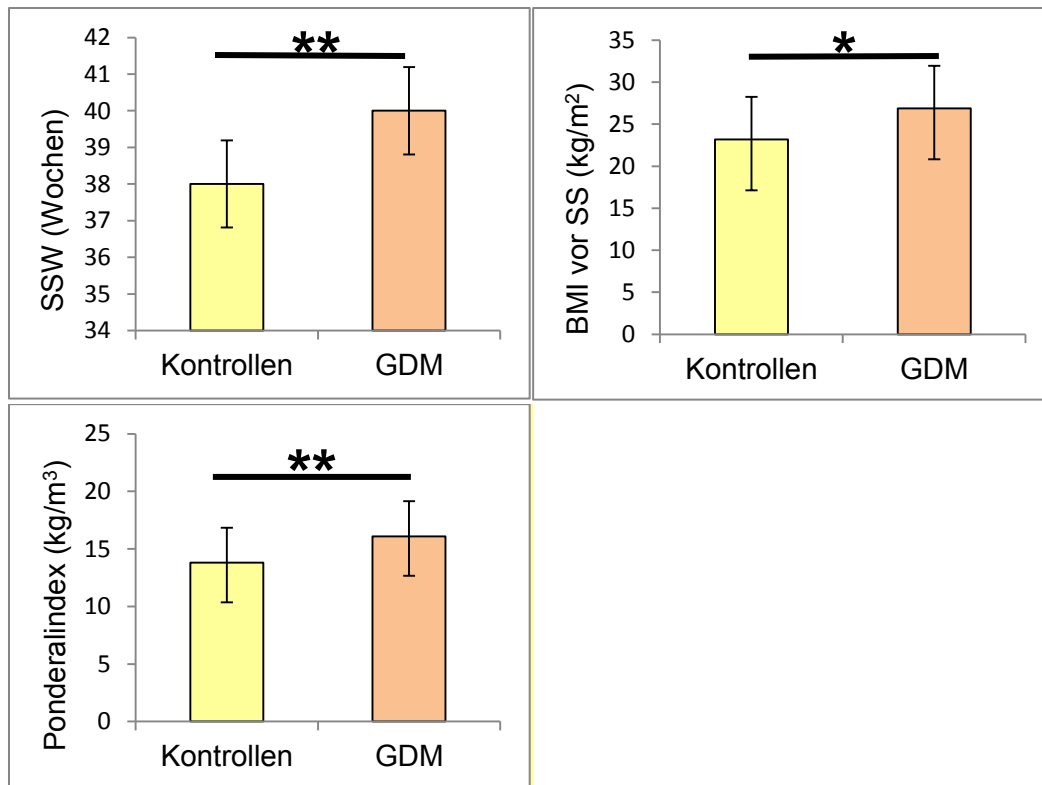


Abb.16.: Signifikante Unterschiede der klinischen Daten: Kontrollen im Vergleich zu GDM

4.1.2 Protein- und Lipidparameter der Kohorte

	Kontrollen	STABW	GDM	STABW	Signifikanz	
Plasmaprotein (mg/ml)	n=26		n=15			
Mutter	44	±10,65	47	±5,01	p=0,349	/
Kind	41	±6,53	46	±6,87	p=0,039	*
Signifikanzen	p=0,212	/	p=0,497	/		
	Kontrollen	STABW	GDM	STABW	Signifikanz	
Totales Plasmacholesterin (mmol/l)	n=26		n=15			
Mutter	8,14	±2,28	5,85	±2,36	p=0,006	**
Kind	1,65	±0,47	1,55	±0,61	p=0,562	/
Signifikanzen	p=<0,001	***	p=<0,001	***		
	Kontrollen	STABW	GDM	STABW	Signifikanz	
Triglyceride (mmol/l)	n=25		n=11			
Mutter	3,95	±1,91	3,72	±1,83	p=0,831	/
Kind	0,41	±0,02	0,50	±0,36	p=0,783	/
Signifikanzen	p=<0,001	***	p=<0,001	***		

Tab.10.: Serumlipide der Kontrollen und der GDM Gruppe

Es zeigte sich, dass die Proteinlevel bei den Müttern höher sind als bei den Feten und bei der Kontrollgruppe niedriger als bei den GDM. Bei den Triglyceriden liegen die Feten beider Gruppen fast gleich auf (0,41mmol/l Kontrollen zu 0,5 mmol/l GDM) und auch die Kontrollmütter (3,95 mmol/l) sind nur ein wenig höher als die GDM (3,72 mmol/l). Beim Totalcholesterin sind die Kontrollen, sowohl Mütter(8,14mmol/l) als auch Feten(1,65 mmol/l), höher als die GDM (5,85mmol/l mütterlich, 1,55mmol/l fetal). Und die Mütter sind jeweils höher als die Feten, was durch die Regulation über die Plazentaschranke erklärt werden kann.

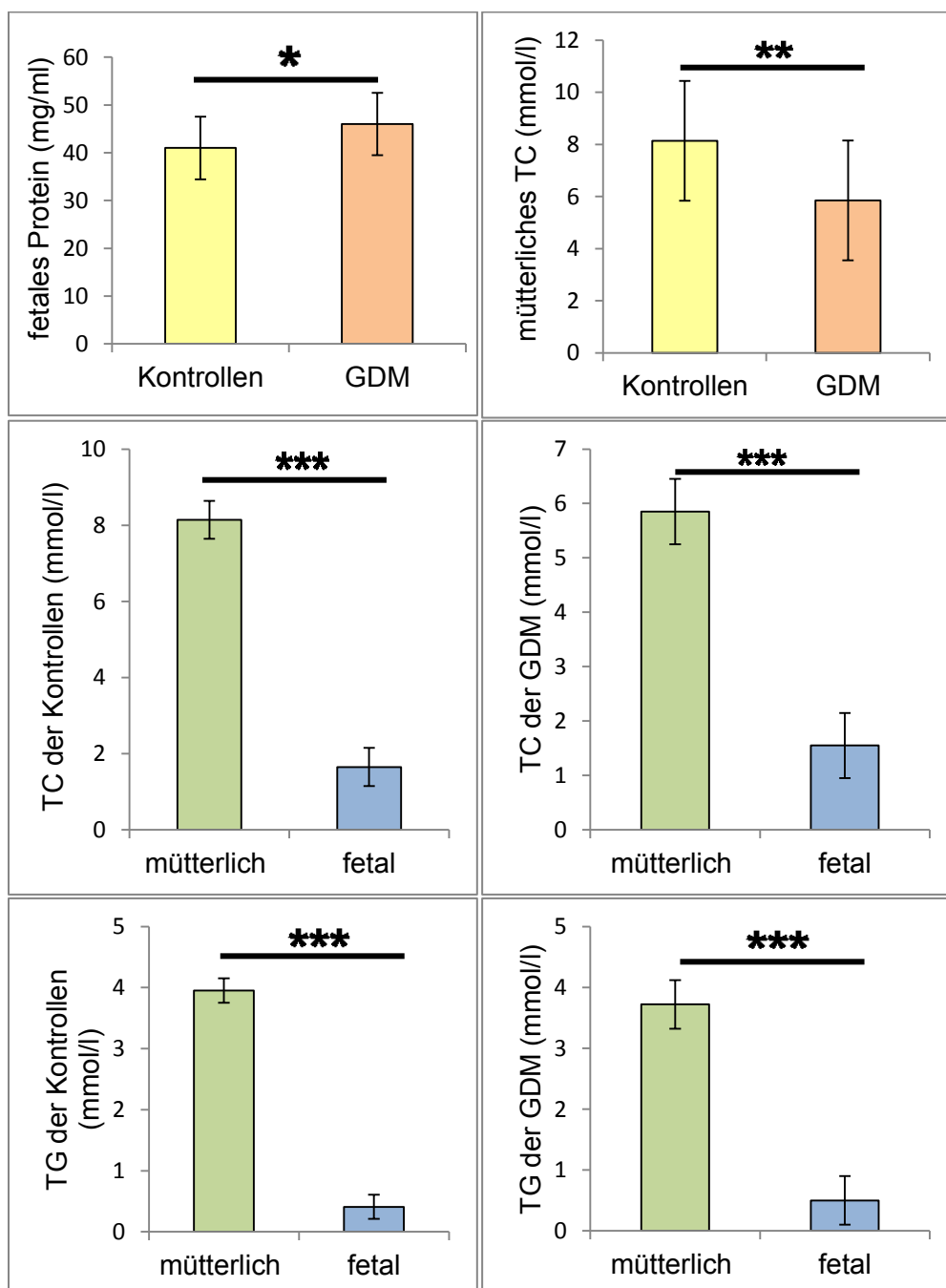


Abb.17.: Signifikante Unterschiede der Serumlipide: Kontrollen im Vergleich zu GDM

4.2 Protein Carbonyl ELISA

	Kontrollen	STABW	GDM	STABW	Signifikanz	
Proteincarbonyle (nmol/mg)	n=26		n=15			
mütterlich	6,75	±1,58	4,77	±2,25	p=0,001	**
fetal	9,86	±1,65	4,96	±1,19	p=0,001	**
Signifikanzen	p=0,001	**	p=0,184	/		

Tab.11.: Proteincarbonyle der Kontrollen und der GDM Gruppe

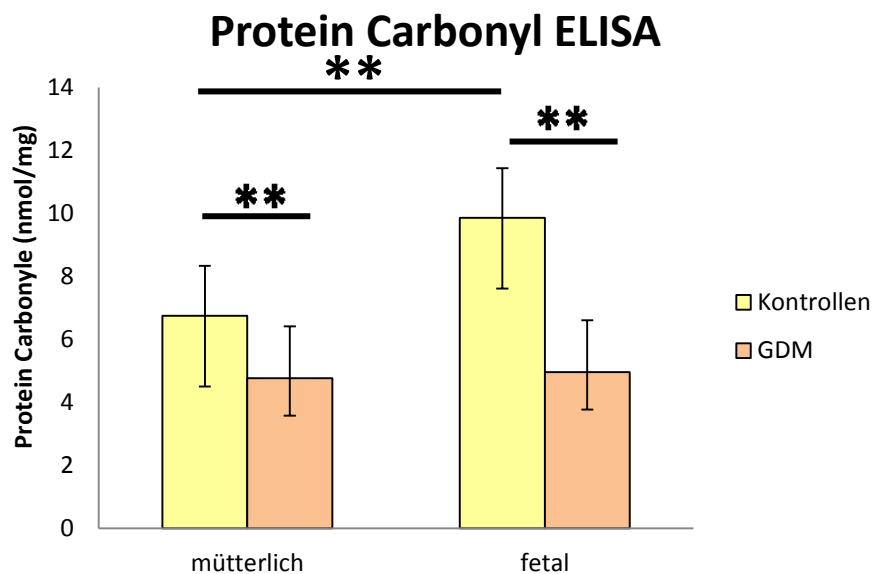


Abb.18.: Signifikante Unterschiede der Proteinbarbonyle: Kontrollen im Vergleich zu GDM

Hier bei den Ergebnissen des Protein Carbonyl ELISA wäre nun zu erwarten gewesen, dass sich unsere Hypothese bestätigt. Es zeigt sich aber, dass die Kinder der Gesunden Mütter auffallend hohe Proteincarbonyl Werte aufweisen. Sie liegen ca. ein Drittel höher, als die Werte ihrer Mütter. Bei den GDM hingegen kann man keinen so deutlichen Unterschied erkennen. Warum dies der Fall ist kann nicht ausreichend erklärt werden. Es zeigt sich aber, dass fast alle Werte eine Signifikanz einander gegenüber haben. Das heißt, dass das Ergebnis sehr wohl statistisch relevant ist, auch wenn es nicht unserer Hypothese entspricht.

Beim Proteincarbonyl ELISA wurden auf jeder Platte vier Proben bekannter Konzentration als interne Kontrollen mitgemessen (BSA, APO A1, Co Serum MS, Co Serum NS). Bei diesen vier Proben sind die Konzentrationen bekannt und dienen nur dem Vergleich der verschiedenen Testdurchläufe.

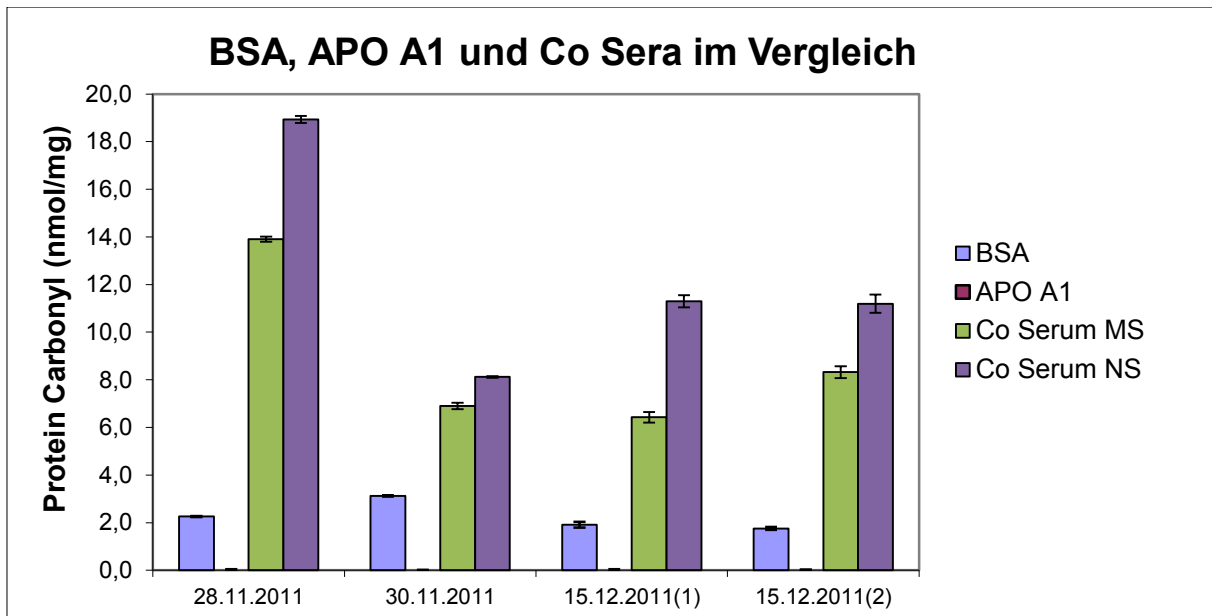


Abb.19.: Graphische Darstellung der Intervarianz beim prot.carbonyl ELISA

Coefficient of variation: $cv = (\sigma * 100) / \mu$

$\sigma = \text{STABW}$, $\mu = \text{Mean Abs}$

28.11.2011	Mean Abs	STABW	Cv (%)	15.12.2011(1)	Mean Abs	STABW	Cv (%)
BSA	2,26	0,02	0,71	BSA	1,91	0,12	6,46
APO A1	0,00	0,00	0,00	APO A1	0,00	0,00	0,00
Co Serum MS	13,90	0,11	0,78	Co Serum MS	6,43	0,22	3,44
Co Serum NS	18,93	0,15	0,78	Co Serum NS	11,30	0,25	2,26
30.11.2011	Mean Abs	STABW	Cv (%)	15.12.2011(2)	Mean Abs	STABW	Cv (%)
BSA	3,12	0,02	0,79	BSA	1,76	0,06	3,65
APO A1	0,00	0,00	0,00	APO A1	0,00	0,00	0,00
Co Serum MS	6,90	0,14	2,00	Co Serum MS	8,32	0,25	2,96
Co Serum NS	8,12	0,03	0,37	Co Serum NS	11,19	0,38	3,43

Tab.12.: Intervarianz Berechnungen Protein Carbonyl ELISA

	Summe Mean Absorbance	Summe STABW	CV in %
BSA	9,05	±0,23	2,5
APO A1	0,00	±0,00	0,0
co.Serum mat.	35,55	±0,71	2,0
co.Serum fet.	49,54	±0,82	1,6

Tab.13.: Intervarianz Protein Carbonyl ELISA

Hier in der Zusammenfassung zeigt sich nun, dass der Unterschied zwischen den einzelnen Labortests und Untersuchungsschritten nicht signifikant ist. Errechnet wurde hier der Variationskoeffizient Cv in %, als die Summe der Standardabweichungen mal 100 durch die Summe der Absorptionen. Der Größte Unterschied beträgt lediglich 2,5% beim BSA. Das bedeutet, dass es keine signifikante Streuung unter den Tests gibt. Das wiederum sagt aus, dass man die Tests sehr gut miteinander vergleichen kann, ohne große Fehler in den Ergebnisse zu erwarten.

4.3 Malondialdehyd ELISA

	Kontrollen	STABW	GDM	STABW	Signifikanz	
MDA (pmol/mg)	n=26		n=15			
mütterlich	7,32	±1,31	5,85	±0,56	p=0,001	**
fetal	8,46	±1,13	6,97	±0,95	p=0,001	**
Signifikanzen	p=0,002	**	p=0,001	**		

Tab.14.: MDA der Kontrollen und der GDM Gruppe

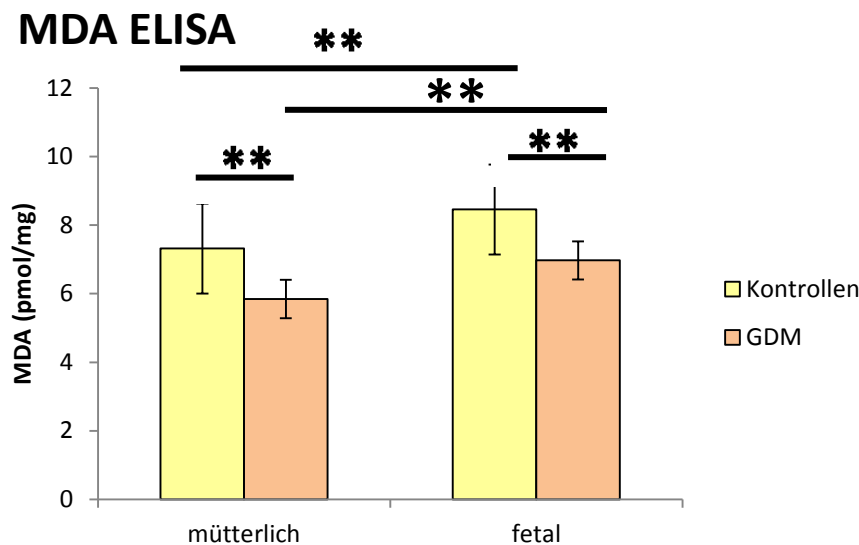


Abb.20.: Signifikante Unterschiede des MDA: Kontrollen im Vergleich zu GDM

Hier bei den Ergebnissen des MDA ELISA wäre nun zu erwarten gewesen, dass sich unsere Hypothese bestätigt. Aber es verhält sich ähnlich dem Protein Carbonyl ELISA. Es liegen die Kinder der Gesunden Mütter am höchsten mit ihren MDA Werten. Zu sehen ist hier allerdings, dass auch in der GDM Gruppe deutliche Unterschiede zwischen Müttern und Kindern auftreten. Das könnte bedeuten, dass der MDA ELISA sensibler ist als der Proteincarbonyl ELISA, da man auch in der GDM Gruppe signifikante Unterschiede erkennen kann. Oder aber es werden mehr Lipide modifiziert als Proteine. Was sich aber zeigt ist, dass die Ergebnisse scheinbar unabhängig vom Diabetes sind. Zudem scheinen die Kontrollen viel sensibler auf oxidativen Stress zu reagieren, als die GDM Gruppe. Was sich aber zeigt ist, dass die Plazenta keinen Schutz gegen oxidativen Stress bietet. Warum dies der Fall ist kann nicht genau erklärt werden. Da hier alle Werte, im Vergleich zum Protein Carbonyl ELISA, eine Signifikanz einander gegenüber haben heißt das, dass das Ergebnis statistisch relevant ist, auch wenn es nicht unserer Hypothese entspricht. Und da bei beiden ELISA Formen ähnliche Werte herausgekommen sind, ist Zufall eher auszuschließen. Und

durch die vergleichbaren Intervarianzen zeigt sich, dass es auch keine groben Mess- oder Handhabungsfehler sind, da an verschiedenen Tagen mit verschiedenen Kits dieselben Ergebnisse herauskamen.

Beim MDA ELISA wurden auf jeder Platte vier Proben bekannter Konzentration mitgemessen (BSA, APO A1, Co Serum MS, Co Serum NS). Bei diesen vier Proben sind die Konzentrationen schon bekannt und dienen nur dem Vergleich der Platten untereinander.

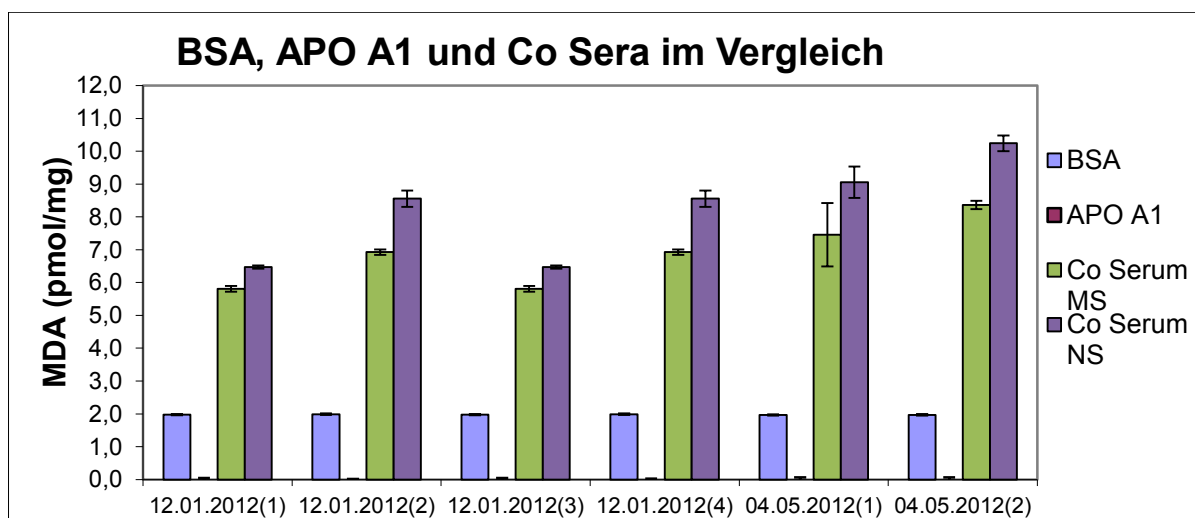


Abb.21.: Graphische Darstellung der Intervarianz beim MDA ELISA

Coefficient of variation: $cv=(\sigma \cdot 100)/\mu$

σ =STABW, μ =Mean Abs

12.01.2012(1)	Mean abs	STABW	Cv (%)	12.01.2012(4)	Mean abs	STABW	Cv (%)
BSA	1,97	0,003	0,15	BSA	1,99	0,011	0,53
APO A1	0,00	0,000	0,00	APO A1	0,00	0,000	0,00
Co Serum MS	5,81	0,087	1,49	Co Serum MS	6,93	0,080	1,16
Co Serum NS	6,47	0,051	0,78	Co Serum NS	8,55	0,248	2,90
12.01.2012(2)	Mean abs	STABW		04.05.2012(1)	Mean abs	STABW	
BSA	1,99	0,011	0,53	BSA	1,97	0,006	0,29
APO A1	0,00	0,000	0,00	APO A1	0,00	0,000	0,00
Co Serum MS	6,93	0,080	1,16	Co Serum MS	7,46	0,963	12,92
Co Serum NS	8,55	0,248	2,90	Co Serum NS	9,06	0,480	5,30
12.01.2012(3)	Mean abs	STABW		04.05.2012(2)	Mean abs	STABW	
BSA	1,97	0,003	0,15	BSA	1,97	0,015	0,78
APO A1	0,00	0,000	0,00	APO A1	0,00	0,000	0,00
Co Serum MS	5,81	0,087	1,49	Co Serum MS	8,36	0,128	1,53
Co Serum NS	6,47	0,051	0,78	Co Serum NS	10,24	0,238	2,32

Tab.15.: Intervarianz Berechnungen MDA ELISA

	Summe Mean Absorbance	Summe STABW	CV in %
BSA	11,87	0,05	0,4
APO A1	0,00	0,00	0,0
Co Serum MS	41,29	1,43	3,5
Co Serum NS	49,35	1,31	2,7

Tab.16.: Intervarianz Protein Carbonyl ELISA

Hier in der Zusammenfassung zeigt sich nun, dass der Fehler zwischen den einzelnen Labortests und Untersuchungsschritten nicht signifikant ist. Die größte Abweichung hat das Co Serum MS mit 3,5%, was nicht markant ist. Das wiederum sagt aus, dass man die Tests sehr gut miteinander vergleichen kann, ohne große Fehler in die Ergebnisse zu bringen.

4.4 Korrelationen

Nun soll noch geprüft werden, ob es zwischen den einzelnen Testergebnissen Korrelationen gibt, die etwas über die Zusammenhänge aussagen.

4.4.1 Protein Carbonyl ELISA

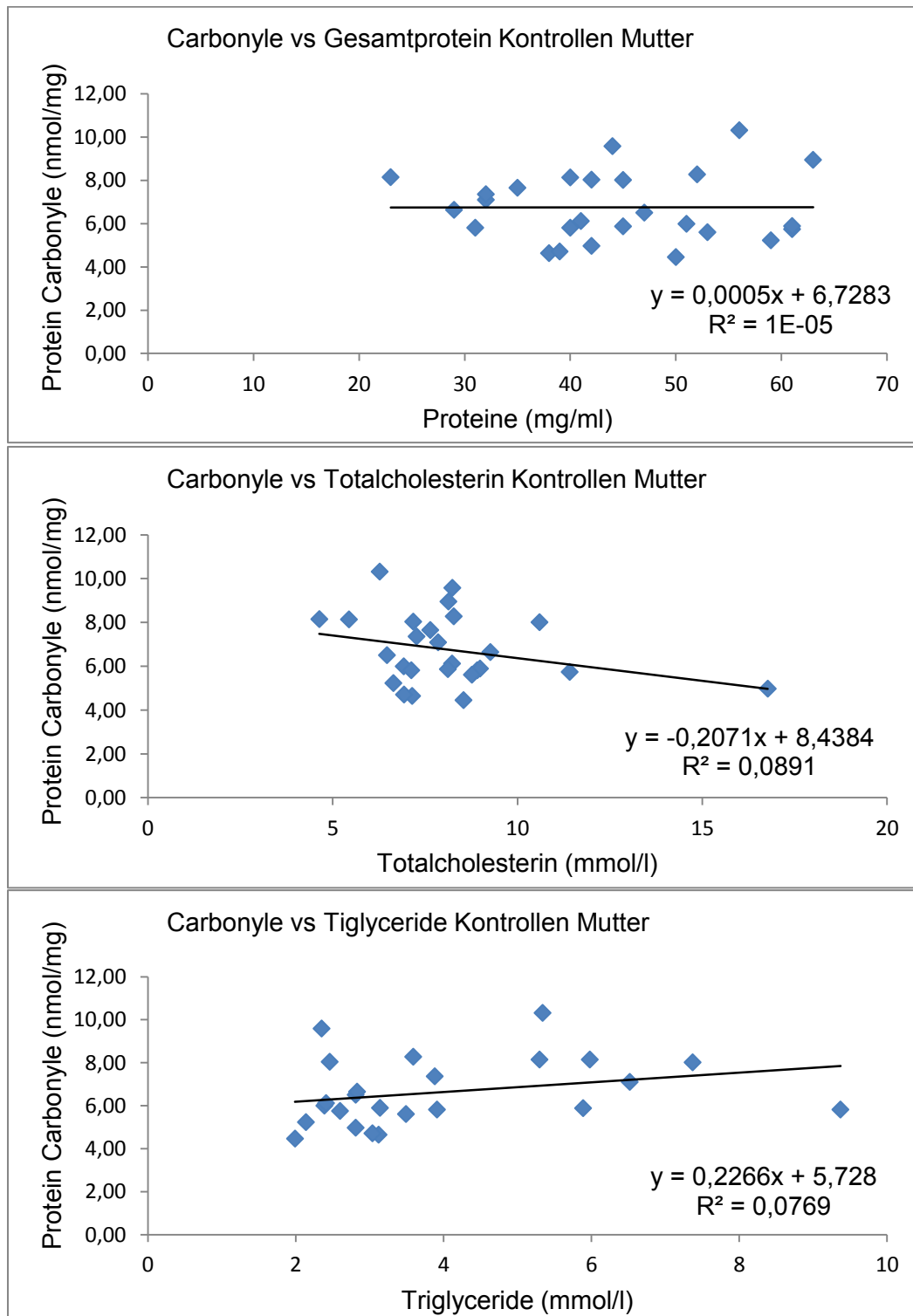


Abb.22.: Korrelationen zwischen den Serumlipiden und Carbonylen der Kontrollen mütterlich

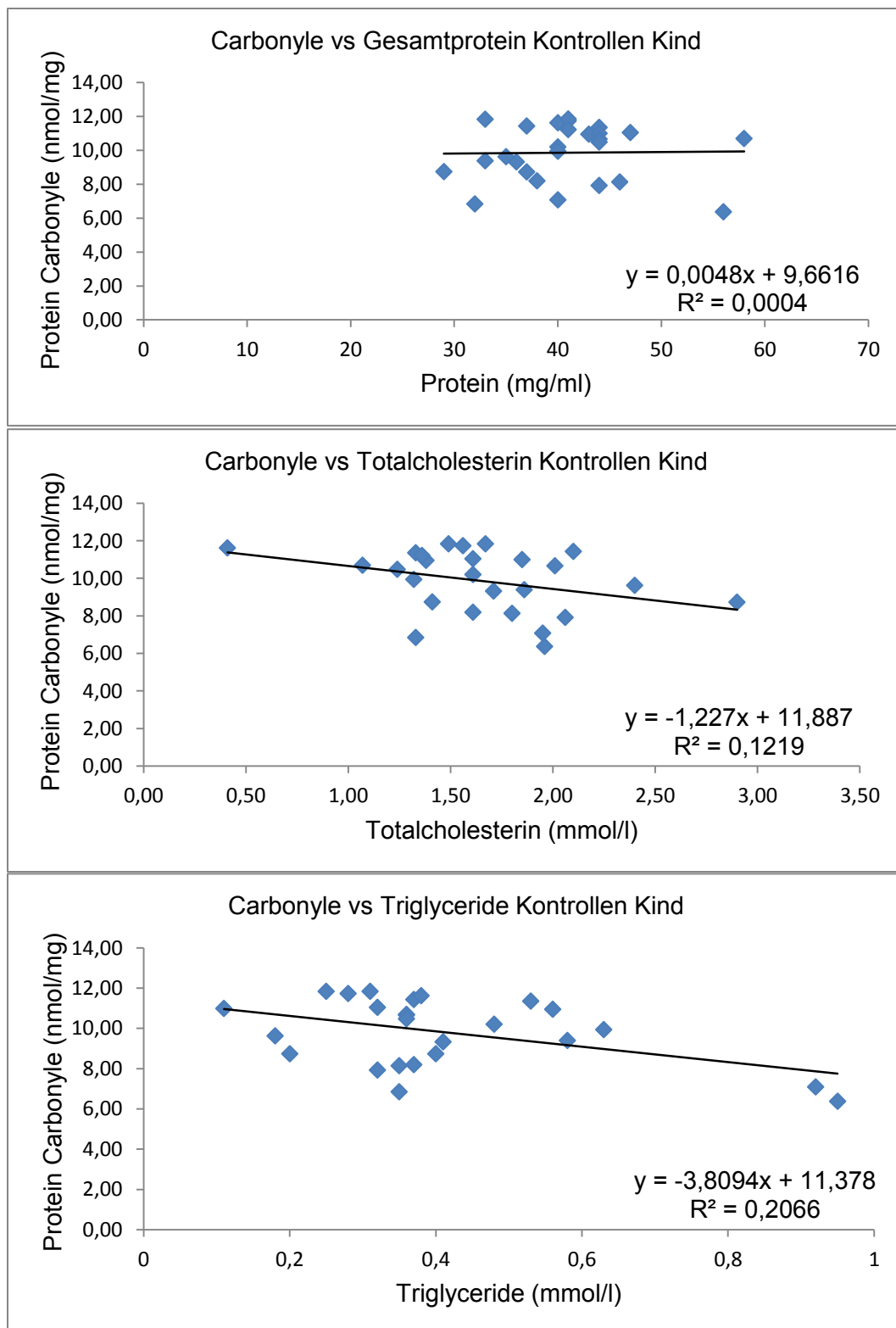


Abb.23.: Korrelationen zwischen den Serumlipiden und Carbonylen der Kontrollen fetal

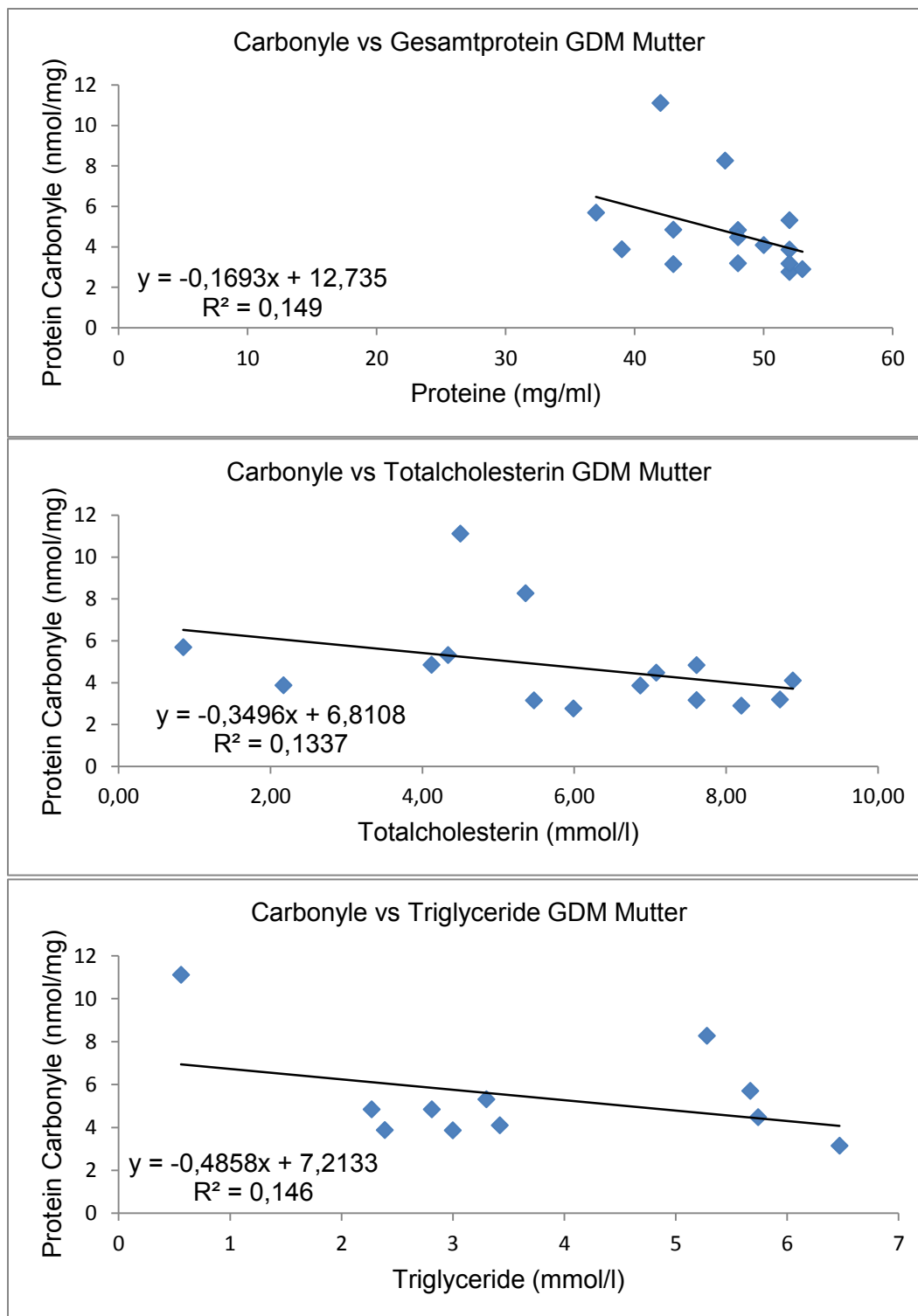


Abb.24.: Korrelationen zwischen den Serumlipiden und Carbonylen der GDM mütterlich

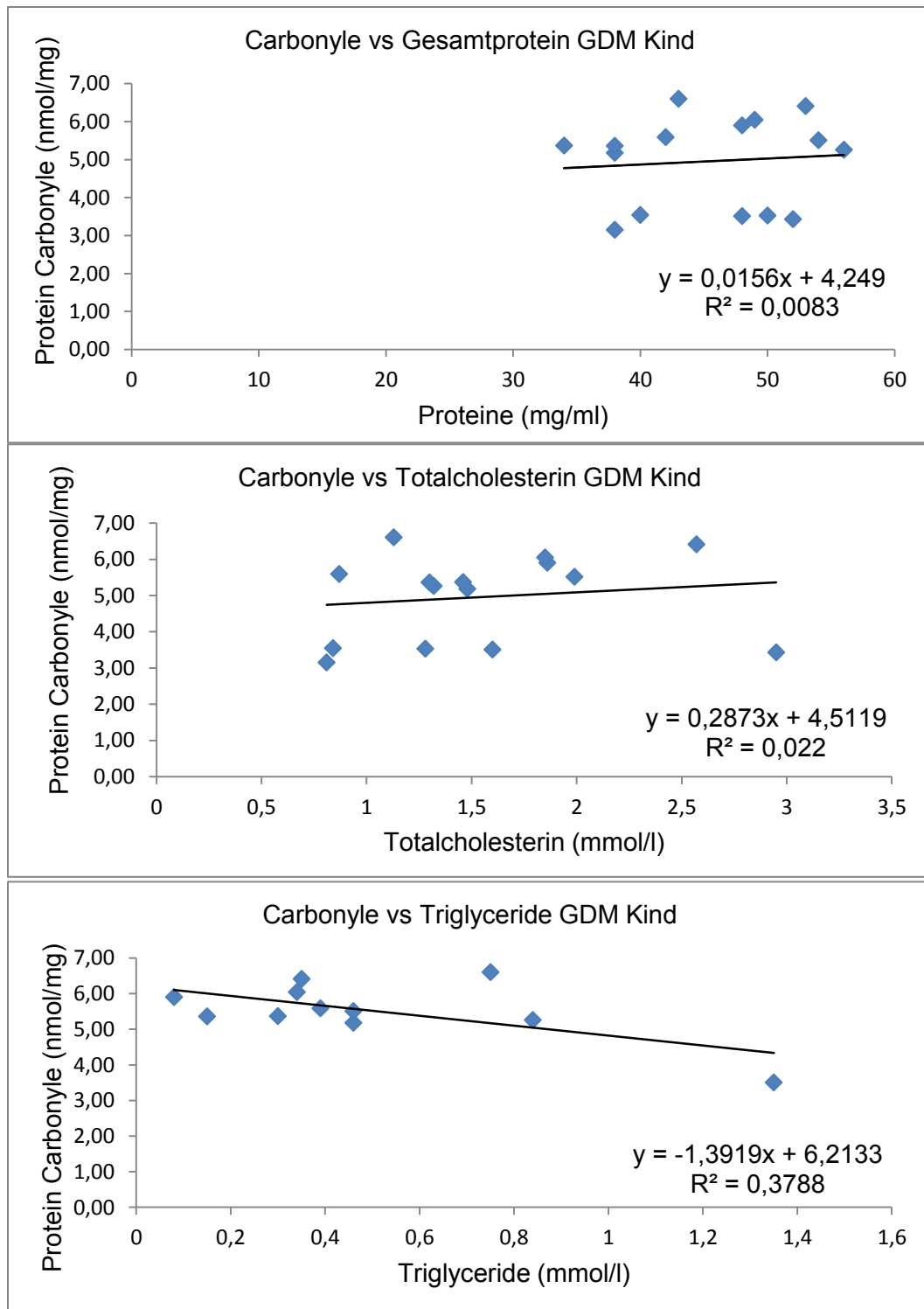


Abb.25.: Korrelationen zwischen den Serumlipiden und Carbonylen der GDM fetal

Da die Trendlinie annähernd waagrecht verlaufen kann man sagen, dass zwischen keinem der Ergebnisse signifikante Korrelationen bestehen. Der R^2 als Korrelationskoeffizient zeigt dies genauer. Ein hohes R^2 erlaubt eine gute Vorhersage der Qualität der linearen Abhängigkeit. Ein R^2 nahe bei Null zeigt an, dass es keinen Zusammenhang zwischen den

Variablen gibt. In unserem Fall heißt das, dass die Ergebnisse des Proteincarbonyl ELISA keine Korrelation zu den (Lipo-)Proteinkonzentrationen haben.

4.4.2 MDA ELISA

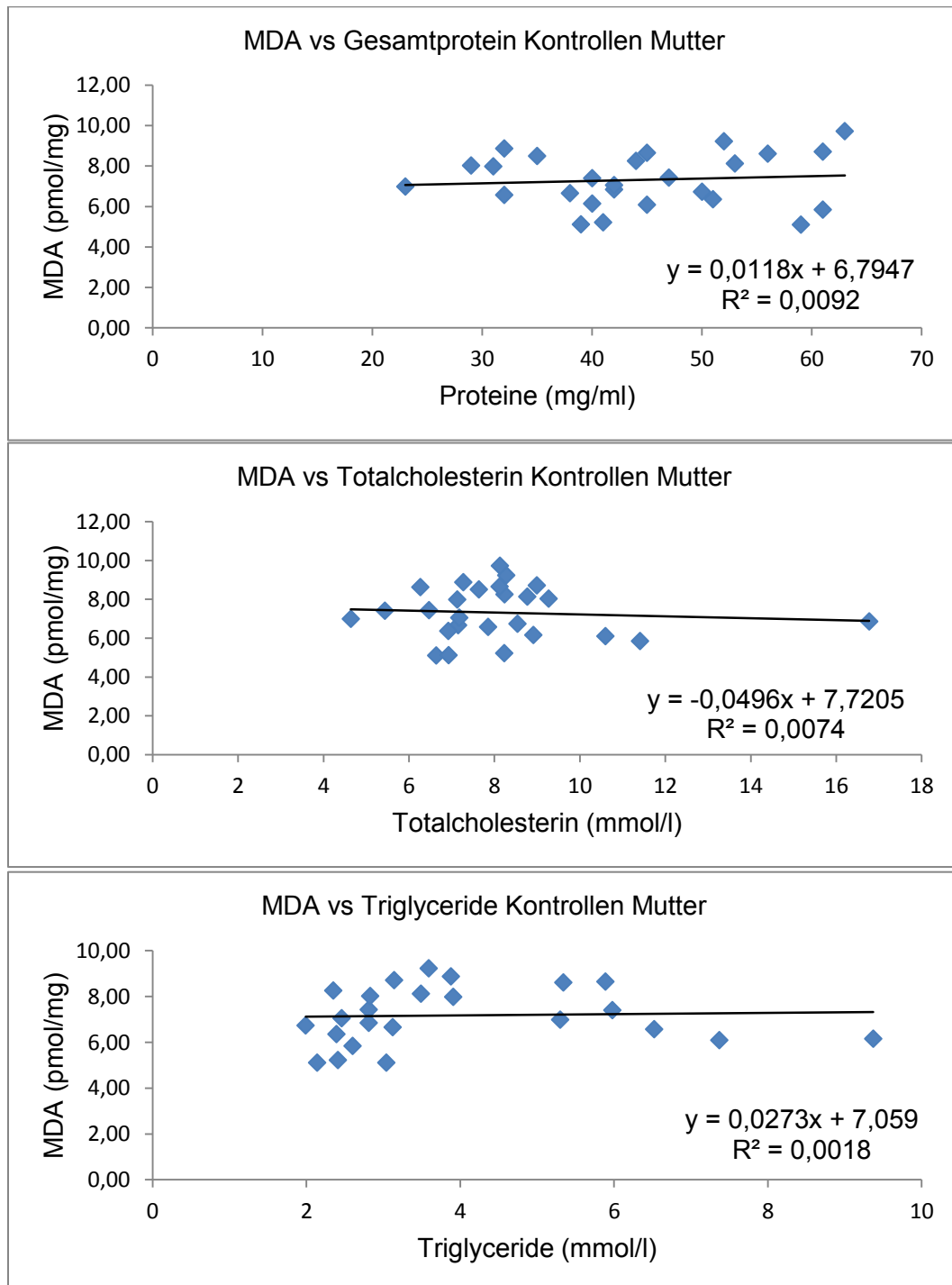


Abb.26.: Korrelationen zwischen den Serumlipiden und MDA der Kontrollen mütterlich

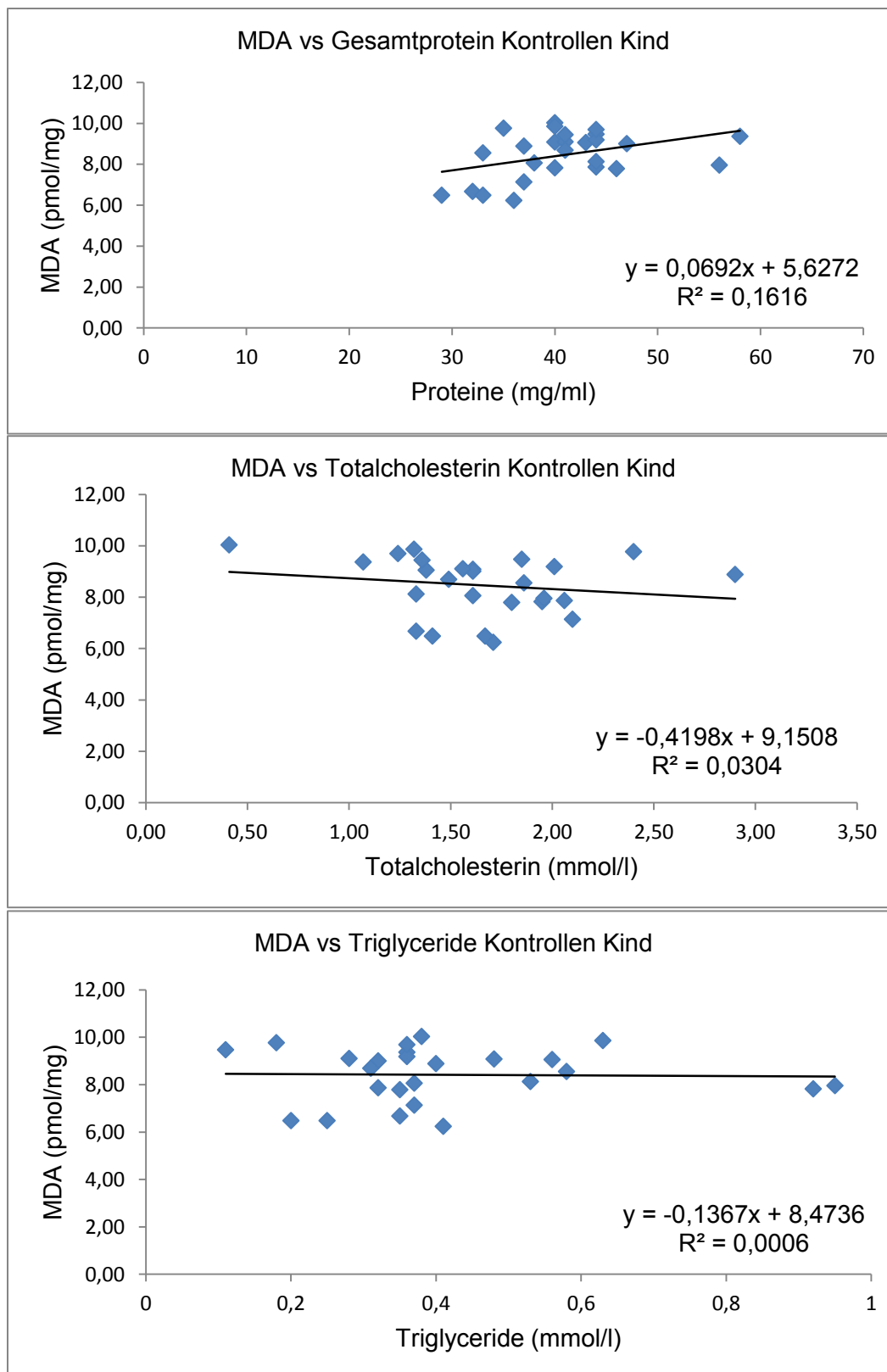


Abb.27.: Korrelationen zwischen den Serumlipiden und MDA der Kontrollen fetal

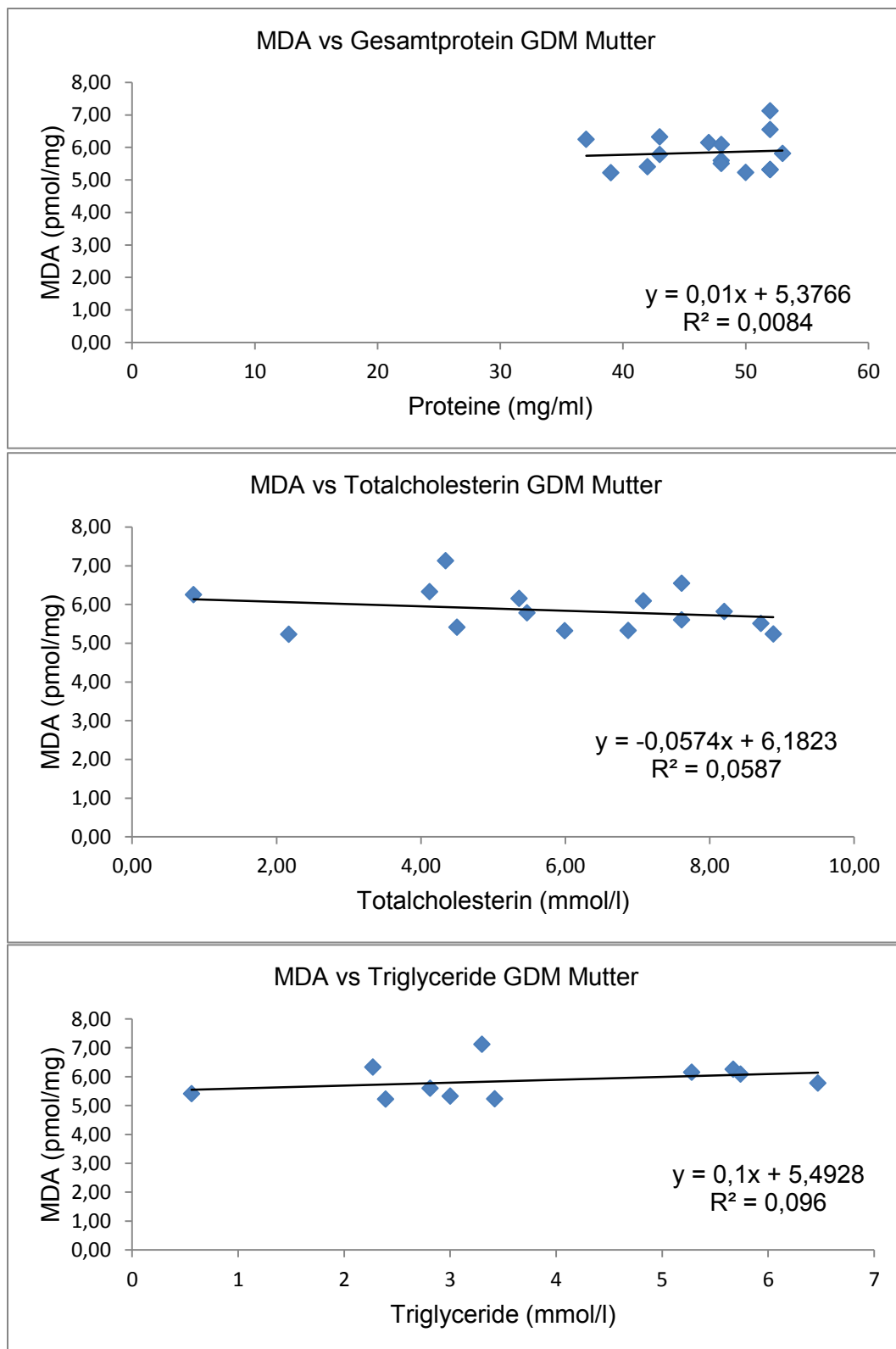


Abb.28.: Korrelationen zwischen den Serumlipiden und MDA der GDM mütterlich

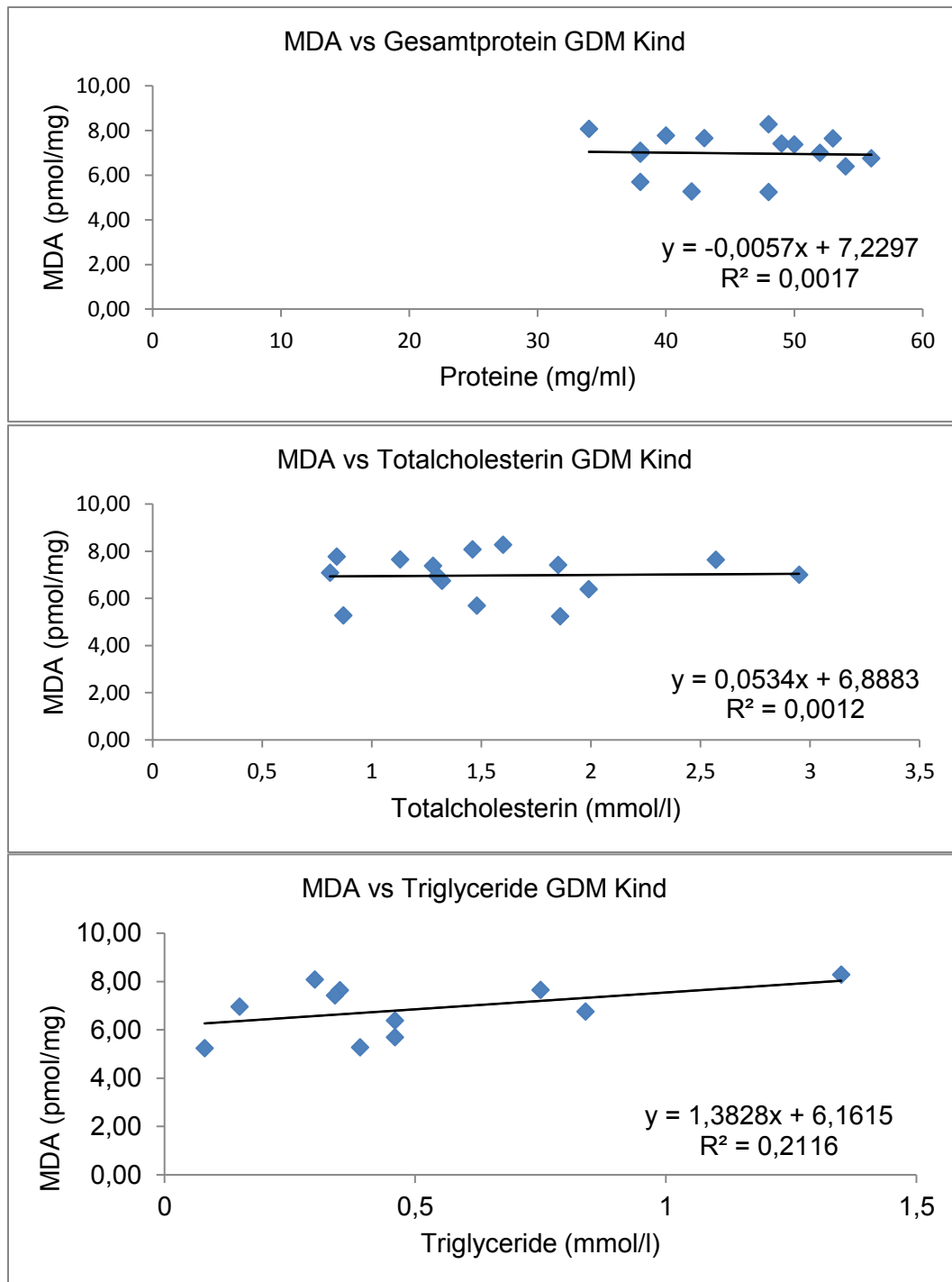


Abb.29.: Korrelationen zwischen den Serumlipiden und MDA der GDM fetal

Auch in diesem Fall liegen keine Korrelationen vor, da der Wert R^2 immer annähernd Null beträgt. Graphisch zeigt sich das, da die Trendlinien fast waagrecht verlaufen. Daher kann man sagen, dass es beim MDA ELISA keine Korrelation zu den (Lipo-)Proteinwerten gibt.

5 Diskussion

Die Kinder der Kontrollgruppe (38Wochen) kamen durchschnittlich 2 Wochen früher auf die Welt als die GDM Kinder (40Wochen) was signifikant war ($p=0,003/**$). Der BMI vor der Schwangerschaft war bei den GDMs ($26,9\text{kg/m}^2$) signifikant ($p=0,011/*$) höher als bei den Kontrollen ($23,2\text{kg/m}^2$). Zusätzlich waren die GDM schon vor der Schwangerschaft adipös. Der BMI nach der Geburt hingegen zeigt keinen signifikanten Unterschied (Kontrollen $28,4\text{kg/m}^2$ zu GDM $31,3\text{kg/m}^2$). Das Plazentagewicht der beiden Gruppen war im Mittel nicht signifikant unterschiedlich (Kontrollen 616g zu GDM 643g), genauso wie das Fetalgewicht (Kontrollen 3245g zu GDM 3393g). Der Ponderalindex hingegen ist bei den GDM ($16,1\text{kg/m}^3$) signifikant ($p=0,009/**$) höher als bei den Kontrollen ($13,8\text{kg/m}^3$), was bedeutet, dass die GDM Kinder bei gleichem Gewicht um einiges kleiner sind.

Die Plasmaproteinwerte sind bei den GDM Müttern (47mg/ml) tendenziell höher als bei den Kontrollen (44mg/ml). Dieser Unterschied ist allerdings nicht signifikant. Plasmaproteinwerte bei den GDM Feten (46mg/ml) sind dagegen signifikant ($p=0,039/*$) höher, als die der Kontrollfeten. Die Proteinwerte der untersuchten Mütter liegen ganz allgemein unter den Grenzwerten der in der Literatur angegebenen Normwerte (61-81mg/ml (67)). Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass diese Plasmaproben bereits mehrfach aufgetaut wurden und dies zu einem erhöhten Anteil an degradierten Proteinfragmenten führt, die bei der Proteinbestimmung nicht miterfasst wurden. Die Plasmaproteinkonzentrationen der Neugeborenen sind jedoch im Normbereich (41-63mg/ml (67)). Ob diese Proben oft aufgetaut wurden konnte nicht mehr nachvollzogen werden.

Die Totalcholesterinkonzentrationen der Kontrollmütter (8,14mmol/l) sind signifikant ($p=0,006/**$) höher als die der GDM-Gruppe (5,85mmol/l). Die Feten unterscheiden sich kaum beim Plasmacholesterin (Kontrollen 1,65mmol/l zu GDM 1,55mmol/l). Man sieht, dass die Feten signifikant erniedrigte ($p=<0,001/**$) Cholesterinwerte im Vergleich zu den Müttern aufweisen. Die gemessenen Werte liegen im Normbereich ($<5,0\text{mmol/l}$ (68)), da die Plazenta den Transport teilweise hemmt und der Fetus nur eine distinkte Menge endogen produzieren kann. Die Cholesterinwerte der Mütter liegen etwas über der Norm (5,2-5,7mg/ml (68)).

Die Konzentration der Triglyceride der Mütter beider Gruppen sind ident (Kontrollen 3,95mmol/l zu GDM 3,72mmol/l). Auch die Triglyceridkonzentration der Feten unterscheiden sich kaum (Kontrollen 0,41mmol/l zu GDM 0,50mmol/l). Man kann aber sehen, dass die Triglyceride der Mütter merklich ($p=<0,001/**$) höher sind als die Kinder. In Anbetracht der Grenzwerte für Kinder ($<1,7\text{mmol/l}$ (70)) ist das aber normal. Die Mütter hingegen sind im Vergleich zu den Normwerten erhöht (ideal $<1,7\text{mmol/l}$; grenzwertig 1,7-2,3mmol/l (69)). Das könnte wieder auf eine fehlende Diät hindeuten, die jedoch alle White A Diabetikerinnen erhalten haben.

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde die Vermutung aufgestellt, dass es einen positiven Zusammenhang zwischen der Konzentration an modifizierten Proteinen im Plasma der Mutter und/oder des Kindes und der Erkrankung gibt. Das würde bedeuten, dass die an GDM erkrankten Mütter höhere Werte haben müssten als ihre Kinder und als die gesunde Vergleichsgruppe. Dies würde folgendes Konzentrationsgefälle bedeuten: Die GDM Mütter sind am höchsten gefolgt von den GDM Feten danach kommen die Kontroll Mütter und als letztes mit den niedrigsten Werten die Kontroll Feten. Entgegen der Hypothese hat sich jedoch herausgestellt, dass die Kinder der Kontrollgruppe die höchsten Konzentrationen an modifizierten Proteinen aufwiesen, gefolgt von ihren Müttern. Danach kamen erst die Kinder der Diabetikerinnen und letztendlich die Diabetikerinnen selbst. Die beobachtete Konzentration kann anhand dieses Gefälles beschrieben werden.

Kontroll Feten (Carbonylproteine 9,86nmol/mg/ MDA 8,46pmol/mg)→

Kontroll Mütter (Carbonylproteine 6,75nmol/mg/ MDA 7,32pmol/mg)→

GDM Feten (Carbonylproteine 4,96nmol/mg/ MDA 6,97pmol/mg)→

GDM Mütter (Carbonylproteine 4,77nmol/mg/ MDA 5,85pmol/mg)

Beim Proteincarbonyl ELISA zeigt sich, dass die Konzentrationen der Kontrollmütter (6,75nmol/mg Protein) signifikant ($p=0,001/**$) höher liegen, als die GDM Mütter (4,77nmol/kg Protein). Auch die Konzentration der Kontrollfeten liegen signifikant ($p=0,001/**$) höher (Kontrollen 9,86nmol/mg Protein zu GDM 4,96nmol/mg Protein). Weiters sind die Konzentrationen der Kontrollmütter signifikant ($p=0,001/**$) niedriger als die ihrer Kinder. Bei den GDM stellt sich hier kein merklicher Unterschied ein. Zu beobachten ist, dass der Grenzwert für Carbonylproteine bei 3-5 nmol/mg Protein (71) liegt. Die GDM befinden sich somit im tolerierbaren Rahmen. Die Konzentrationen der Kontrollen hingegen sind um einiges erhöht. In einer Studie mit Ratten, welche dem Menschen vergleichbare Werte haben, zeigte sich, dass unter körperlicher Belastung über 12 Wochen hinweg die Carbonylproteine sichtlich anstiegen von 2,6 auf 5,4nmol/mg Protein (72). Für unsere Ergebnisse könnte das bedeuten, dass die Schwangerschaft für den gesunden Körper so anstrengend ist wie Sport über längere Zeit. Der Diabetes scheint diese Reaktion zu unterdrücken.

Beim MDA ELISA konnte beobachtet werden, dass die Konzentrationen der Kontrollfeten (8,46pmol/mg Protein) waren am höchsten, gefolgt von ihren Müttern (7,32pmol/mg Protein). Am zweitniedrigsten waren die Konzentrationen der GDM Feten (6,97pmol/mg Protein) und am niedrigsten die der GDM Mütter (5,85pmol/mg Protein). Das zeigt, dass die Konzentrationen der Kontrollmütter signifikant ($p=0,001/**$) höher sind als die der GDM Mütter und die Konzentrationen der Kontrollfeten signifikant ($p=0,001/**$) höher sind als die der GDM Feten. Man erkennt auch, dass die Konzentrationen der Kontrollmütter signifikant ($p=0,002/**$) niedriger sind als die ihrer Kinder. Dasselbe gilt auch für die Konzentrationen

der GDM Gruppe ($p=0,001/**$). Die Grenzwerte für die MDA Konzentrationen im Serum/Plasma sind normalerweise knapp an der Messgrenze des ELISA (73). Weil der gebundene Anteil fast 80% beträgt kann man es im Gewebe besser nachweisen (73). Die Grenzwerte des Testverfahrens beginnen ab 10pmol/mg Protein. Im Gewebe reicht der Wert von 10-100pmol/mg Protein, je nach Gewebetyp (73). Somit sind unsere Werte gerade noch messbar aber unterhalb der Grenzwerte. Zum Vergleich ist in normalem Colongewebe 40pmol/mg Protein (74) und im Gehirn $8,02\pm 1,25$ pmol/mg Protein (75), was annähernd unseren Werten gleicht, MDA zu finden. Bei Erkrankungen wie zum Beispiel dem Colonkarzinom steigt der Wert auf 147pmol/mg Protein an (74). Bei der Subarachnoidalblutung steigt der Wert auf $48,27\pm 4,4$ pmol/mg Protein an (75). Für uns würde das bedeuten, dass die Schwangerschaft für den Körper gleich viel Stress bedeutet wie eine Erkrankung und daher die Werte ansteigen. Der Diabetes scheint auf irgendeine Weise diesen Vorgang zu unterbinden.

Dies lässt den Schluss zu, dass eine gestörte Glukosetoleranz in der Schwangerschaft alleine nicht diese Ergebnisse erklären, und weitere noch nicht bekannte Mechanismen für die Erhöhung der modifizierten Proteinspiegel im fetalen Blut ebenso wie im Blut der Schwangeren verantwortlich ist. Weitere Forschungen könnten an dieser Vermutung ansetzen, um das zu verifizieren.

6 Quellenverzeichnis

1. Pschyrembel: Klinisches Wörterbuch. 260.neu bearbeitete Auflage. Berlin: de Gruyter; 2004. Seite 1434f.
2. Klink R, Pape HC, Silbernagel S. Physiologie: 5. Komplett überarbeitete Ausgabe. Stuttgart: Thieme Verlag; 2005. Seite 570f.
3. Lexikon Medizin: Das Nachschlagewerk für Ärzte, Apotheker, Patienten. 4. neubearbeitete und erweiterte Auflage. München: Elsevier; Seite 1331.
4. Lexikon Medizin: Das Nachschlagewerk für Ärzte, Apotheker, Patienten. 4. neubearbeitete und erweiterte Auflage. München: Elsevier; Seite 1164.
5. Petru E. Geburtshilfe: Zellbiologie/Histologie/Embryologie/Pathologie. 6.Auflage. Graz: 2007. Kapitel 5
6. Böcker W, Denk H, Heitz PU. Pathologie: 3.Auflage. München: Elsevier, Urban & Fischer Verlag; 2004. Seite 948.
7. Sadler WT. Medizinische Embryologie: Die normale menschliche Entwicklung und ihre Fehlbildungen. 10.korrigierte Auflage. Stuttgart: Thieme Verlag;2003. Kapitel 3-6.
8. Sadler WT. Medizinische Embryologie: Die normale menschliche Entwicklung und ihre Fehlbildungen. 10. korrigierte Auflage. Stuttgart: Thieme Verlag; 2003. Seite 104-110, 124.
9. Human-Embryologie Embryogenese: Modul 10 Fetale Membranen und Plazenta [Internet]. Lausanne: Institut de pathologie, CHUV [cited 08.11.2013]. Available from: <http://www.embryology.ch/allemand/fplacenta/villosite01.html>
10. Lüllmann-Rauch R. Taschenlehrbuch Histologie: komplett überarbeitete 2.Auflage. Stuttgart: Thieme Verlag; 2006. Kapitel 21.6.
11. Klink R, Pape HC, Silbernagel S. Physiologie: 5. Komplett überarbeitete Ausgabe. Stuttgart: Thieme Verlag; 2005. Seite 570ff.
12. Sadler WT. Medizinische Embryologie: Die normale menschliche Entwicklung und ihre Fehlbildungen. 10. korrigierte Auflage. Stuttgart: Thieme Verlag; 2003. Seite 112f.
13. Klink R, Pape HC, Silbernagel S. Physiologie: 5. Komplett überarbeitete Ausgabe. Stuttgart: Thieme Verlag; 2005. Seite 574.
14. Bundesministerium für Gesundheit. GESUNDheit.gv.at: Öffentliches Gesundheitsportal Österreich [Internet]. Wien: Bundesministerium für Gesundheit; [updated 16.04.2013; cited 08.11.2013]. Available from: https://www.gesundheit.gv.at/Portal.Node/ghp/public/content/Wie_sich_der_Koerper_der_Mutter_veraendert_HK.html
15. Petru E. Geburtshilfe: Zellbiologie/Histologie/Embryologie/Pathologie. 6.Auflage. Graz: 2007. Seite16f.

16. Silbernagel S, Despopoulos A. Taschenatlas Physiologie: 7.Auflage. Stuttgart: Thieme Verlag; 2007. Seite 306f.
17. Schünke M, Schulte E, Schumacher U, Voll M, Wesker K. Prometheus: Innere Organe. Lernatlas der Anatomie. 2.Auflage überarbeitet und erweitert. Stuttgart: Thieme Verlag; 2009. Seite 20.
18. Klinke R, Pape HC, Silbernagel S. Physiologie: 5. Komplett überarbeitete Ausgabe. Stuttgart: Thieme Verlag; 2005. Seite 575.
19. Böcker W, Denk H, Heitz PU. Pathologie: 3.Auflage. München: Elsevier, Urban & Fischer Verlag; 2004. Seite 948f.
20. Baltzer J, Friese K, Graf M, Wolff F. Praxis der Gynäkologie und Geburtshilfe: Das komplette Wissen in einem Band. 1.Auflage: Thieme Verlag; 2004. Seiten 167ff.
21. Bartels Ä, Egan N, Broadhurst DI, Khashan AS, Joyce C, Stapleton M, O'Mullane J, O'Donoghue K. Maternal serum cholesterol levels are elevated from the 1st trimester of pregnancy: A cross-sectional study. Journal of Obstetrics and Gynaecology. 2012 Nov; 32:747-752.
22. Gesundheitsseiten24 [Internet]. [cited 22.09.2013]. Available from: <http://www.gesundheitsseiten24.de/familienplanung/schwangerschaft/ein-kind-entsteht.html>
23. Berghaus TM, Demmelmaier H, Koletzko B. Fatty acid composition of lipid classes in maternal and cord plasma at birth. EurJPediatr.1997 Nov; 157:763-768.
24. Bansal N, Kennedy Cruickshank J, McElduff P, Durrington PN. Cord blood lipoproteins and prenatal influences. Lippincott Williams&Wilkins.2005; 0957-9673
25. Kautzky-Willer A, Bancher-Todesca D, Pollak A, Repa A, Lechleitner M, Weitgasser R. Gestationsdiabetes-Leitlinien für die Praxis. Wien Klein Wochenschr. 2012 Dez; 124[Suppl 2]:58-65. Seite 58ff.
26. Dudenhausen JW, Schneider HPG, Bastert G. Frauenheilkunde und Geburtshilfe: 2.Auflage: de Gruyter Lehrbuch; 2003. Seiten 186ff.
27. Petru E. Geburtshilfe: Zellbiologie/Histologie/Embryologie/Pathologie. 6.Auflage. Graz: 2007. Seite 109ff.
28. Kautzky-Willer A, Bancher-Todesca D, Pollak A, Repa A, Lechleitner M, Weitgasser R. Gestationsdiabetes-Leitlinien für die Praxis. Wien Klein Wochenschr. 2012 Dez; 124[Suppl 2]:58-65. Seite 60.
29. Böhi P. Diabetes Mellitus und Schwangerschaft: Hebammenschule am KSSG. 29.02.2004.
30. Wikipedia die freie Enzyklopädie [Internet]. San Francisco: Wikimedia Foundation Inc.; [updated 25.09.2013; cited 09.11.2013]. Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Diabetes_mellitus_and_pregnancy

31. Silbernagel S, Lang F. Taschenatlas der Physiologie: 2. Korrigierte Auflage. Stuttgart: Thieme Verlag; 2005. Seite 292.
32. Edson EJ, Bracco OL, Vambergue A, Koivisto V. Managing diabetes during pregnancy with insulin lispro: a safe alternative to human insulin. *Endocrine Practice*. 2010; Vol 16. No 6 November/December 2010.
33. Hood M, Damm P, Kaaja R, Visser GH, Dunne F, Demidova I, Hansen AS, Mersénbach H. Fetal and perinatal outcome in type 1 diabetes pregnancy: a randomized study comparing insulin aspart with human insulin in 322 subjects. *Am J Obstet Gynecol*. 2008; 198(2): 186.e1-7.
34. Nicholson W, Bolen S, Witkop CT, Neale D, Wilson L, Bass E. Benefits and risks of oral Diabetes Agents compared with insulin in women with gestational Diabetes: a systematic review. *Obstet Gynecol*. 2009; 113:193-205.
35. Rowan JA, Hague WM, Gao W, Battin MR, Moore MP. MjG Trial Investigators. Metformin versus Insulin for the treatment of gestational diabetes. *N Engl J Med*. 2008; 358:2003-15.
36. Kleinwechter H, Schäfer-Graf U, Koschinsky T, Krainer F. Gestationsdiabetes. *Der Diabetologe*. 2012 Nov; 8:631-645, 652-656
37. Gueraud F, Atalay M, Bresgen N, Cipak A, Eckl PM, Huc L, Jouanin I, Siems W, Uchida K. Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. *Free Radical Research*, 2010 Okt; 44(10):1098-1124
38. Vistoli G, Maddipati KKR, Cipak A, Zarkovic N, Carini M, Aldini G. Advanced glycoxidation and lipoxidation end products (AGEs and ALEs): an overview of their mechanisms of formation. *Free Radical Research*, 2013 Aug; 47 (Suppl.1): 3-27
39. Hemschemeier SK, Kürz L, Maelicke A. CHEMGAROO:Chemgapedia [Internet]. Berlin: Wiley Information Services GmbH; 1999 [updated 2013; cited 10.11.13]. Available from: <http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/8/bc/vlu/proteine/aminosaeuren.vlu/Page/vsc/de/ch/8/bc/proteine/aminosaeuren.vlu/einleit/as/modif2.vscml.html>
40. Ashraf G, Madian AG, Regnier FE. Proteomic Identification of carbonylated Proteins and their oxidation sites. *Journal of Proteome research*. Chemistry Department, Purdue University, West Lafayette, Indiana 47907. 2010; 9,3766-3780.
41. Held S. ImmunDiagnostik [Internet]. Bensheim: Immundiagnostik AG; 2009 [cited 08.11.2013]. Available from: [http://www.immundiagnostik.com/home/produkte/testkits-assays/oxidativer-stress-praeventivmedizin.html?tx_mokom01immunprodukte_pi1\[an\]=K%207822&tx_mokom01immunprodukte_pi1\[ag\]=404&cHash=a8fd21ebfc](http://www.immundiagnostik.com/home/produkte/testkits-assays/oxidativer-stress-praeventivmedizin.html?tx_mokom01immunprodukte_pi1[an]=K%207822&tx_mokom01immunprodukte_pi1[ag]=404&cHash=a8fd21ebfc)

42. Heilmann I, et all. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg [Internet]. Halle: Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg; [updated 23.09.2013; cited 22.09.2013]. Available from: http://www.molekulare-biowissenschaften.uni-halle.de/projekte-forschungsschwerpunkt/2656980_2657157/
43. Wikipedia die freie Enzyklopädie [Internet]. San Francisco: Wikimedia Foundation Inc.; [updated 30.10.2013; cited 22.09.2013]. Available from: <http://de.wikipedia.org/wiki/Malondialdehyd>
44. http://www.diss.fu-berlin.de/diss/servlets/MCRFileNodeServlet/FUDISS_derivate_000000002924/1_Einleitung.pdf?hosts (22.09.13)
45. Hemschemeier SK, Greifenberg S,. CHEMGAROO:ChemgaPedia [Internet]. Berlin: Wiley Information Services GmbH; 1999 [updated 2013; cited 10.11.13]. Available from: <http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/16/im/antioxsys/antioxsys.vlu/Page/vsc/de/ch/16/im/antioxsys/lipidoxidation.vscml.html>
46. Antwerpes F, Freyer Timo. DocCkeck Flexicon [Internet]. Köln: DocCkeck Medical Services GmbH; [updated 2013; cited 10.11.2013]. Available from: <http://flexikon.doccheck.com/de/Schwangerschaftswoche>
47. WorldHealthOrganisation [Internet]. WHO; 2006 [updated 28.11.2013; cited 10.11.2013]. Available from: http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html
48. Wikipedia die freie Enzyklopädie [Internet]. San Francisco: Wikimedia Foundation Inc.; [updated 04.04.2013; cited 22.09.2013]. Available from: <http://de.wikipedia.org/wiki/Ponderal-Index>
49. Rohrer F. Der Index der Körperfülle als Maß des Ernährungszustandes. Münchner Med. Wschr. 1921; 68(1921), 580-582.
50. Lawrence FD. New Developments in Obesity Research. Nova Science Publishers. Hauppauge. New York 2006.
51. Studienkurzbezeichnung: Glukosestoffwechsel in der Schwangerschaft Version 3, 19.07.2013
52. Hübl W. Med4you [Internet]. Wien: Wolfgang Hübl; [updated 04.04.2010; cited 08.11.2013] Available from: http://www.med4you.at/laborbefunde/lbef2/lbef_blutzuckerbelastung.htm
53. DDG. 057/088-Praxisleitlinien der Deutschen Diabetes-Gesellschaft (DDG) und der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG) „Gestationsdiabetes“ aktueller Stand: 10/2011. AWMF online.
54. Gospodinov A. 123RF [Internet]. Nidderau: 123RF GmgH; [cited 28.03.2013]. Available from: http://de.123rf.com/photo_10983318_set-bestehend-aus-zwei-blut-container-voll-mit-blut-isoliert-auf-weiss-mit-clipping-pfade.html

55. Universitätsspital Basel [Internet]. Basel: Universitätsspital Basel; [cited 28.03.2013]. Available from: <http://www.unispital-basel.ch/das-universitaetsspital/bereiche/spezialkliniken/kliniken/frauenklinik/angebot/geburtshilfe-und-schwangerschaftsmedizin/nabelschnurblutspende/>
56. Bradford Reagent, Technical Bulletin, Product information; Sigma Catalog Number B6916 (User manual).
57. Product Manual, Oxiselect™ Protein Carbonyl ELISA Kit; Cell Biolabs, Inc. Catalog Number STA-310 (User Manual).
58. Wikimedia [Internet]. Los Angeles; Wikimedia Foundation; 2005 [updated 18.05.2010; cited 31.03.2013]. Available from: <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:ELISA.jpg>
59. Greiner; Cholesterin (CHOD-PAP) (User manual)
60. Wikipedia die freie Enzyklopädie [Internet]. San Francisco: Wikimedia Foundation Inc.; [updated 20.11.2013; cited 09.11.2013]. Available from: <http://de.wikipedia.org/wiki/Cholesterin>
61. Dörner K. Taschenbuch Klinische Chemie und Hämatologie: 7. Auflage. Stuttgart: Thieme Verlag. Seite 170.
62. Core Life Sciences [Internet]. Core Life Sciences Inc.; 2012 [cited 31.03.2013]. Available from: <https://corelifesciences.com/scandrop-nano-volume-spectrophotometer.html>
63. Discovery Scientific [Internet]. Kanada: Discovery Scientific Inc.; [cited 27.11.2013]. Available from: <http://discoveryscientific.com/products-by-type2/s/spectrophotometers>
64. Product Manual, Oxiselect™ MDA Adduct ELISA Kit; Cell Biolabs, Inc. Catalog Number STA-332 (User Manual)
65. TooToo [Internet]. China: 2004 [cited 31.03.2013]. Available from: <http://www.tootoo.com/product/mda-drug.html>
66. LabAssay™ Triglyceride; Wako Pure Chemical Industries, Ltd. CodeNo.290-63701. (User Manual)
67. DocMedicus [Internet]. Bad Münden: DocMedicus Verlag GbR; [cited 01.12.2013]. Available from: <http://www.gesundheits-lexikon.com/Labormedizin-Labordiagnostik/Eiweiss-im-Serum-im-Urin/Gesamteiweiss-im-Serum.html>
68. MedizInfo [Internet]. München: Netzathleten-Media; [cited 01.12.2013]. Available from: <http://www.medizinfo.de/kardio/lipide/cholesterin.htm>
69. WebMD [Internet]. WebMD; 2005 [last updated 2013; cited 01.12.2013]. Available from: <http://www.webmd.com/cholesterol-management/lowering-triglyceride-levels>
70. LiveStrong.com [Internet]. Santa Monica: Demand Media, Inc.; [last updated 2013; cited 01.12.2013]. Available from: <http://www.livestrong.com/article/408579-normal-triglyceride-levels-for-children/>

71. Abele D, Vanquez-Medina JP, Zenteno-Savin T. Oxidative stress in aquatic ecosystems: Wiley-Blackwell.
72. Sen CK, Packer L, Hänninen O. Handbook of oxidants und antioxidants in exercise. Amsterdam: Elsevier Science B.V.; 2000.
73. Oxis ResearchTM MDA. OXIS Health Products, Inc.; User Manual
74. Baur G, Wendel A. The activity of the peroxide-metabolizing system in human colon carcinoma. J Cancer Res Clin Oncol.1980; 97(3):267-73.
75. Hoff JT, Keep RF, Xi G, Hua Y. Brain Edema XIII: Acta Neurochirurgica Supplement 96. Wien: Springer WienNewYork; 2006.

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Mütterliches Cholesterin über die Schwangerschaft (21)
Tabelle 2:	Die Risiken für Mutter und Kind nach GDM-Erkrankung (24,25)
Tabelle 3:	Modifikationen von Aminosäuren (37)
Tabelle 4:	Daten der Kontrollgruppe
Tabelle 5:	Daten der Diabetesgruppe
Tabelle 6:	Zusammenfassung der BMI Grenzwerte aus Tab.6. (45)
Tabelle 7:	Signifikanzgrößen
Tabelle 8:	Diagnose-Grenzwerte für GDM im venösen Plasma (51)
Tabelle 9:	Vergleich der klinischen mütterlichen und fetalen Daten beider Gruppen
Tabelle 10:	Serumlipide der Kontrollen und der GDM Gruppe
Tabelle 11:	Proteincarbonyle der Kontrollen und der GDM Gruppe
Tabelle 12:	Intervarianz Berechnungen Protein Carbonyl ELISA
Tabelle 13:	Intervarianz Protein Carbonyl ELISA
Tabelle 14:	MDA der Kontrollen und der GDM Gruppe
Tabelle 15:	Intervarianz Berechnungen MDA ELISA
Tabelle 16:	Intervarianz Protein Carbonyl ELISA

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Schematische Darstellung einer Plazenta (9)
Abbildung 2:	Bildausschnitt A im Detail (9)
Abbildung 3:	Leitlinien der österreichischen Diabetes Gesellschaft zur Behandlung von GDM (28)
Abbildung 4:	Aus mehreren Quellen (26,29,30) zusammengefasste White Klassifikation nach der Diabetes klassifiziert wird
Abbildung 5:	Carbonylprodukte einiger Aminosäuren (40)
Abbildung 6:	MDA Strukturformel (43)
Abbildung 7:	Internationale Klassifikation des Gewichts bezogen auf den BMI (47)
Abbildung 8:	EDTA Blutröhrchen (54)
Abbildung 9:	Nabelschnurblutabnahme (55)
Abbildung 10:	ELISA 69-Well Platte (58)
Abbildung 11:	Cholesterinmolekül (60)
Abbildung 12:	Trinder-Reaktion (61)
Abbildung 13:	Scan Drop (62)
Abbildung 14:	MDA ELISA Kit (65)
Abbildung 15:	Triglyceridbestimmung mit der DAOS Methode (66)
Abbildung 16:	Signifikante Unterschiede der klinischen Daten: Kontrollen im Vergleich zu GDM
Abbildung 17:	Signifikante Unterschiede der Serumlipide: Kontrollen im Vergleich zu GDM
Abbildung 18:	Signifikante Unterschiede der Proteinbarbonyl: Kontrollen im Vergleich zu GDM
Abbildung 19:	Graphische Darstellung der Intervarianz beim prot.carbonyl ELISA
Abbildung 20:	Signifikante Unterschiede des MDA: Kontrollen im Vergleich zu GDM
Abbildung 21:	Graphische Darstellung der Intervarianz beim MDA ELISA
Abbildung 22:	Korrelationen zwischen den Serumlipiden und Carbonylen der Kontrollen mütterlich
Abbildung 23:	Korrelationen zwischen den Serumlipiden und Carbonylen der Kontrollen fetal
Abbildung 24:	Korrelationen zwischen den Serumlipiden und Carbonylen der GDM mütterlich
Abbildung 25:	Korrelationen zwischen den Serumlipiden und Carbonylen der GDM fetal
Abbildung 26:	Korrelationen zwischen den Serumlipiden und MDA der Kontrollen mütterlich

- Abbildung 27: Korrelationen zwischen den Serumlipiden und MDA der Kontrollen fetal
- Abbildung 28: Korrelationen zwischen den Serumlipiden und MDA der GDM mütterlich
- Abbildung 29: Korrelationen zwischen den Serumlipiden und MDA der GDM fetal

9 Appendix

9.1 Abkürzungen

APO A1	Apolipoprotein A1
ATP	Adenosintriphosphat
BG	Blutglukose
BMI	Body Mass Index
BSA	Bovinesserumalbumin
BZ	Blutzucker
bzw.	Beziehungsweise
Ca ²⁺	Calcium
CBBG	Comassie-Brilliant-Blau G250
Co Serum MS	Kontrollserum mütterlich
Co Serum NS	Kontrollserum fetal
CO ₂	Kohlendioxid
C _v	Variationskoeffizient, relatives Streuungsmaß
d.h.	das heißt
DM	Diabetes Mellitus
DNA/DNS	Desoxiribonukleinsäure
EDTA	Ethylen-Diamin-Tetra-Acetat
ELISA	Enzym-linked-immuno-sorbant Assay
fet.	fetal/ Kindlich
g	Gramm
GDM	Gestations Diabetes Mellitus
h	Stunde
HbA1c	Glukohämoglobin
HCG	Humanes Choriongonadotropin
HPL	Humanes PLazentalaktogen
HPLC	High Pressure Liquid Chromatographie
IFG	impaired fasting glucose/ gestörter Nüchterglukose-spiegel
IgG	Immunglobulin G
IGT	Impaired glucose tolerance/ gestörte Glukose-toleranz
IUFT	intra-uteriner Fruchttod
kg	Kilogramm
KHK	Koronare Herzkrankheit

KHSS	Kohlenhydratstoffwechselstörung
mat.	Maternal/mütterlich
MDA	Malondialdehyd
Mean abs.	Mittlere Extinktion
mg/dl	Milligramm pro Deziliter
ml/min	Milliliter pro Minute
mmol/l	Millimol pro Liter
MW	Mittelwert
n	Fallzahl
nm	Nanometer
nmol/mg	Nanomol pro Milligramm
O ₂	Sauerstoff
oGTT	oraler Glukosetoleranztest
ÖDG-Leitlinien	österreichische Diabetes Gesellschaft
p	Signifikanzwert
pAVK	periphere Arterielle Verschlusskrankheit
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PE	Praeklampsie
PI	Ponderalindex
Pmol/mg	Picomol pro Milligramm
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
ROS	Reaktiven Sauerstoff Spezies
SIH	Schwangerschaftsinduzierter Hypertonus
SS	Schwangerschaft
SSW	Schwangerschaftswoche
STABW	Standardabweichung
T1DM	Typ1 Diabetes Mellitus
TC	Totalcholesterin
TG	Triglyceride
US	Ultraschall
z.B.	zum Beispiel

9.2 Lebenslauf

Jennifer Etheridge

Zauchen 97

8983 Bad Mitterndorf (Österreich)

0699/10901199

Staatsbürgerschaft: Österreich

Geburtsdatum: 13.11.1988

Geburtsort: Rottenmann (STMK)

jennifer.etheridge@stud.medunigraz.at

Ausbildungen:

- 4 Jahre Volksschule in der VS Bad Mitterndorf
- Danach 8 Jahre am BG/BRG Stainach
- 2007 mit Matura abgeschlossen
- Herbst 2007 mit dem Medizinstudium in Graz begonnen
- Voraussichtlich Frühjahr 2014 beendet

Sprachkenntnisse: Deutsch, Englisch, Latein

Berufliche Erfahrung:

- Fabrikarbeiterin in einer Lebensmittelfabrik
- Mitarbeiterin in einem KIT(KriseninterventionsTeam)
- Kinderschi- und Snowboardlehrer
- Kinderbetreuerin im Rahmen einer Gesundheitsmaßnahme der SvB über 4Jahre
- Famulantin im Rahmen des Studiums

Famulaturen und Ausbildungen im Rahmen des Studiums:

- 18.08.2008 - 29.08.2008
Pflichtfamulatur Diakoniewerk Schladming Chirurgie(2 Wochen)
- 08.09. 2008 - 26.09.2008
Pflichtfamulatur Diakoniewerk Schladming Chirurgie(3 Wochen)
- 07.09.2009 - 27.09.2009
Pflichtfamulatur Diakonissenkrankenhaus Schladming Unfallchirurgie(3 Wochen)
- 01.02.2010 - 26.02.2010
Pflichtfamulatur Diakonissen-Krankenhaus Schladming Unfallchirurgie(4 Wochen)
- 07.02.2011 - 18.02.2011
Pflichtfamulatur Diakonissenkrankenhaus Schladming Allgemein Chirurgie(2 Wochen)
- 12.09.2011 - 23.09.2011
Pflichtfamulatur LKH Leoben Kinder- und Jugendheilkunde (2 Wochen)
- Ersten beiden Ausbildungskurse für das österreichische Akupunkturdiplom